

Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta
Katedra botaniky

Studijní program: Biologie
Studijní obor: Biologie



Michala Šafránková

Bakalářská práce

Molekulární diverzita a druhový koncept aerofytické zelené řasy

***Trentepohlia* (Ulvophyceae, Chlorophyta)**

Molecular diversity and species concept of subaerial green alga *Trentepohlia* (Ulvophyceae,
Chlorophyta)

Praha, 2014

Vedoucí bakalářské práce:
Mgr. Pavel Škaloud, PhD.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 7. 4. 2014

Podpis

Poděkování

Na tomto místě bych velice ráda poděkovala svému školiteli Pavlu Škaloudovi za nesmírně vstřícný přístup, ochotu vždy pomoci či poradit, a zejména za velmi zapálený postoj k výzkumu, který přenesl i na mě.

Můj dík dále patří mé rodině za neustálou podporu a zázemí a samozřejmě mému příteli Petru Klimešovi za oporu při cestě životem a víru ve smysl mé práce.

Poděkovat bych chtěla také všem členům algologické skupiny, kteří vytvářejí příjemné a kamarádské prostředí, ve kterém je radost bádát.

Abstrakt

Tato bakalářská práce pojednává o zelených aerofytických řasách rodu *Trentepohlia* (Ulvophyceae, Chlorophyta). Nejprve se v ní zabývám obecným popisem čeledi Trentepohliaceae a rodu *Trentepohlia*, zejména morfologií, ultrastrukturou a rozmnožováním. Dále shrnuji poznatky z dostupné literatury o druzích rodu *Trentepohlia*, které rostou v České republice. Zabývám se též problematikou symbiotických vztahů těchto řas s různými organismy, i zvláštnostmi jejich růstu, které jsou spojené nejen s ekologickými důsledky. Nakonec v rešerši uvádím problematiku určování druhů pomocí tradičních morfologických metod a metod molekulárních.

Z rešerše plyne, že rod *Trentepohlia* jsou zelené chlorofytí řasy v řadě aspektů zvláštní – zejména co do přítomnosti různých struktur v buňce (jako plasmodesmy, MLS, karotenoidy, atd.). Také se naskytl problém určování jednotlivých druhů. Druhy byly bezmála dvě stě let určovány podle morfologických znaků. Nicméně molekulární metody jsou s těmito tradičními metodami často v rozporu. Bude proto nutná reorganizace již na úrovni rodů. Klíčové je nalezení fylogeneticky relevantních morfologických určovacích znaků.

Klíčová slova: *Trentepohlia*, zelené řasy, druhový koncept, morfologie, určovací kritéria

Abstract

This Bachelor thesis discusses green subaerial algae of the genus *Trentepohlia* (Ulvophyceae, Chlorophyta). Firstly, I focus on general description of the family Trentepohliaceae and the genus *Trentepohlia*, especially on morphology, ultrastructure and reproduction. Secondly, I summarize the knowledge of the literature available about the species of the genus *Trentepohlia* living in the Czech Republic. I also concern with the symbiotic relationship of these algae with other organisms and with some curiosities of their growth leading to ecological and other important consequences. Finally, in this thesis I introduce the issues of the species delimitation using traditional morphological methods in contrast to molecular approaches.

There are several facts resulting from this thesis. The genus *Trentepohlia* is a green alga of the Chlorophyta lineage curious in some aspects, mostly due to presence of some structures among the cells (such as plasmodesmatas, MLS, carotenoids, etc.). There is also a problem of determination of individual species. For almost two hundred years, this problem has been solved by use of morphological features. However, molecular methods are often in contrast to these traditional methods. Therefore, reorganization on a genus level is essential, based on the discovery of phylogenetically relevant morphological criteria.

Key words: *Trentepohlia*, green algae, species concept, morphology, determinative criteria

Obsah

1. Úvod	1
2. Čeleď Trentepohliaceae a rod <i>Trentepohlia</i>	1
2.1 Obecný popis čeledi Trentepohliaceae	1
2.2 Obecný popis rodu <i>Trentepohlia</i>	3
3. Morfologie rodu <i>Trentepohlia</i>.....	3
3.1 Vzhled stélky, typy buněk a buněčná stěna.	3
3.2 Chloroplasty	4
4. Ultrastruktura buňky.	4
4.1 Multi-layered structures (MLS).	4
4.2 Buněčné dělení pomocí fragmoplastu.	5
4.3 Plasmodesmy v příčné příhradce.....	7
4.4 Uspořádání bičíku.....	7
4.5 Karotenoidy v buňkách.....	8
5. Rozmnožování.....	9
5.1 Typy rozmnožovacích struktur.	10
5.2 Osídlení substrátů v závislosti na typech rozmnožovacích struktur.....	13
5.3 Úskalí zkoumání rozmnožovacích struktur.....	14
6. Druhy rodu <i>Trentepohlia</i> rostoucí v ČR	14
7. Zvláštnosti růstu a přírodní úkazy spojené s namnožením rodu <i>Trentepohlia</i>	23
7.1. Epizoické nárosty	23
7.2 Epilitické nárosty a estetické důsledky	23
7.3 Rod <i>Trentepohlia</i> jako fotobiont lišejníků.....	24
7.4 Potenciální průmyslové využití.....	26
7.5 Specifická vůně.....	26
7.6 Přírodní úkazy spojené s namnožením rodu <i>Trentepohlia</i>	26
8. Koncept druhu.....	28
8.1 Původní jména rodu.	28
8.2 Polymorfismus.	28
8.3 Určovací znaky dříve a dnes.....	28
8.4. Nové poznatky pro definici rodů čeledi Trentepohliaceae.....	29
8.5 Tradice vs. nové metody aneb, co dál?.....	30
9. Závěr	31
10. Literatura.....	32

1. Úvod

Trentepohlia Martius 1817 je rod zelených aerofytických (mimo vodní prostředí žijících) řas, které jsou větvené, vláknité a rostou na velkém množství substrátů – ať už přírodních, či lidmi vytvořených. Porůstají například dřevo, kmeny a odhalené kořeny stromů, listy rostlin, kameny, dokonce i betonové a kovové konstrukce (Rindi & Guiry, 2002; Lopéz-Bautista et al, 2002). Výjimkou však není ani kolonizace živočichů těmito řasami – např. pavouků (Cribb, 1964) či tříprstých lenochodů (Suutari, 2010) – která zřejmě může pomáhat při maskování živočichů.

Tento rod dnes čítá okolo 35 druhů (Rindi et al, 2005) a je zkoumán již přibližně 200 let. Jako první se o rodu *Trentepohlia* zmínil Carl von Linné (Linné, 1753), a to pod jménem *Byssus aureus* a *Byssus jolithus*. Martius (1817) později zavedl název *Trentepohlia*.

Problémem zkoumání rodu v minulosti byla absence molekulárně-fylogenetických metod a popis druhů na základě striktně morfologických dat, která se s molekulární strukturou nemusí shodovat. Nejvíce byly studovány tyto aspekty morfologie: habitus stélky, větvení vláken, tvar a velikost vegetativních buněk, rozdíl mezi prostrátními (na substrátu ležícími) a vzpřímenými vlákny, tvar a uspořádání rozmnožovacích struktur a typ kolonizovaného substrátu (Rindi et al, 2005). Morfologická data však neberou v potaz možnost polymorfismu některých druhů (o němž pojednává zběžně již Karsten (1891)), a též pravděpodobnost tvarových změn závislých na podmínkách prostředí (Brand, 1902).

Existuje několik otázek, které vyžadují odpověď. Shodují se morfologicky popsané druhy s druhy určenými pomocí molekulárních metod? Jsou doposud zkoumaná určovací kritéria validní pro rozpoznání jednotlivých druhů? Jak by se mělo přistupovat k dalším studiím? V rámci své bakalářské práce se na ně pokusím co nejlépe odpovědět.

2. Čeleď Trentepohliaceae a rod *Trentepohlia*

2.1 Obecný popis čeledi Trentepohliaceae

Čeleď Trentepohliaceae aktuálně zahrnuje 5 rodů – *Trentepohlia* Martius 1817, *Cephaleuros* Kunze ex Fries 1832, *Printzina* Thompson & Wujek 1992, *Phycopeltis* Millardet 1870 a *Stomatochroon* Palm 1934.

Taxonomická validita *Physolinum* Printz 1920 jako 6. monospecifického rodu (který byl separován např. kvůli reprodukci aplanosporami a obsahuje pouze druh *Physolinum monile*) je kontroverzní a v recentní literatuře tento rod nebyl separován od rodu *Trentepohlia* (Rindi et al, 2006; Lopéz-Bautista et al, 2006).

Cephaleuros a *Stomatochroon* jsou paraziti vyšších rostlin. *Cephaleuros* je považován za striktně epifytický rod žijící těsně pod kutikulou nebo hlouběji ve tkáních listů, větví a plodů cévnatých rostlin. *Stomatochroon* se většinou nachází v substomatárních komůrkách listů tropických rostlin. Zástupci zbylých rodů žijí aerofyticky ve vlhkých habitatech (Thompson & Wujek, 1992). *Trentepohlia* je ze všech rodů na druhy nejbohatší (Rindi & Lopéz-Bautista, 2007). Všechny druhy z čeledi Trentepohliaceae žijí aerofyticky, žádný není vodní. Dříve se do čeledi řadily i některé akvatické druhy, byly z ní však postupně odstraněny (Lopéz-Bautista et al, 2002).

V rámci „zelených rostlin“ existují dvě linie (Leliaert et al, 2012). Linie Streptophyta zahrnuje čeleď Charophyceae a její potomky - vyšší rostliny – a některé další skupiny zelených řas s fragmoplastem řízeným dělením buňky. V linii Chlorophyta se potom v rámci třídy Ulvophyceae nachází mimo jiné právě čeleď Trentepohliaceae (Lopéz-Bautista & Chapman, 2003a; Rindi et al, 2009b; Cocquyt et al, 2010). Čeleď Trentepohliaceae se pravděpodobně během evoluce vyvinula z ulvofytního mořského předka s makroskopickou vláknitou stélkou. Dokládat by to mohla i schopnost některých rodů čeledi Trentepohliaceae růst ve sladkovodních i mořských médiích (Lopéz-Bautista et al, 2002).

Od ostatních zelených řas se čeleď Trentepohliaceae liší: přítomností β -karotenu a hematochromu (který zbarvuje buňky do různých odstínů žluté, oranžové a červené), absencí pyrenoidu v chloroplastech, unikátním bičíkovým aparátem a ultrastrukturou buňky, přítomností plasmodesmů v příčných stěnách a přítomností zvláštních rozmnožovacích struktur – laterálních sporangií (Rindi et al, 2006; Chakraborty & Mondal, 2012; Lopéz-Bautista et al, 2002). Neobvyklá je také jejich schopnost syntetizovat nízkomolekulární karbohydráty, hl. polyoly (polyhydroxyalkoholy) - vícesytné alkoholy jako glycerol, mannitol, ribitol, sorbitol atd. Ty mohou potenciálně sloužit jako chemotaxonomická informace při určování příslušnosti k jednotlivým taxonům. Podle přítomnosti polyolů a podle genetické informace byla například nově potvrzena příslušnost aerofytické jednobuněčné zelené řasy *Spongiochrysis hawaiiensis* (dříve v řádu Cladophorales) k čeledi Trentepohliaceae (Boedeker et al, 2013).

2.2 Obecný popis rodu *Trentepohlia*

Tento rod zahrnuje zelené vláknité řasy s větvenou stélkou, které žijí aerofyticky na rozmanitém přírodním i antropogenním substrátu (kmeny stromů, dřevo, kameny, kov i beton). Druhy tohoto rodu preferují většinou vlhké a zastíněné habitaty (Printz, 1964; Rindi et al, 2006; Tozer et al, 2005), mohou se však vyskytovat i na místech více exponovaných s otevřenou oblohou a dostatkem světla (Neustupa & Škaloud, 2008; Rindi et al, 2008). Jejich růst je ovlivněn teplotou, vlhkostí vzduchu i intenzitou slunečního záření.

Rod *Trentepohlia* je rozšířen kosmopolitně v temperátních i tropických oblastech, avšak jeho největší diverzita zřejmě spadá do oblasti tropů (Fischer, 1922; Rindi & Guiry, 2002). Zatím ale ještě nebyla plně prozkoumána. Je však na místě se obávat, že kácení tropických deštných lesů a mangrovů kromě ostatních závažných důsledků přinese též ohrožení diverzity nejen čeledi Trentepohliaceae (Chakraborty & Mondal, 2012), ale i ostatních aerofytických řas, neboť tropy jsou na jejich výskyt mnohem bohatší, než oblasti temperátní (Printz, 1920; Neustupa, 2001).

3. Morfologie rodu *Trentepohlia*

3.1 Vzhled stélky, typy buněk a buněčná stěna

Stélka je větvená, její větve směřují většinou na různé strany a vyrůstají buď z nejsvrchnějšího konce mateřské buňky, subterminálně, anebo z prostředku buňky. Růst vláken se odehrává hlavně dělením terminálních buněk.

Část vláken se plazí po substrátu (taková vlákna se nazývají prostrátní – „prostrate filaments“), zbylá vlákna jsou vztyčená vzhůru (vzpřímená vlákna – „errect filaments“). Vlaskové a rhizoidní struktury chybí (Printz, 1964).

Buňky vztyčených vláken jsou většinou cylindrické či soudečkovité, buňky vláken prostrátních soudečkovité či globulární (Fischer, 1922).

Buňky řas rodu *Trentepohlia* jsou kryty buněčnou stěnou. Ta může být popraskaná či rozeklaná (Karsten, 1891; Printz, 1964), může také vypadat lamelovitá (Fischer, 1922) nebo vrstevnatá (Brand, 1902). Skládá se z celulózy a pektinu (Fischer, 1922).

Tyto látky mohou u terminálních buněk tvořit bezbarvou celulózní/pektinovou čepičku – „Zellulosehütchen“/„Pektosekappen“ (Karsten 1891; Brand 1902). Ta by mohla zřejmě sloužit jako ochranná vrstva – ať už před mechanickým poškozením, nebo nadměrným

zářením. Čepičky vznikají pravděpodobně odumřením rozmnožovacích struktur nebo vegetativních buněk či jako membránové zbytky (Fischer, 1922).

3.2 Chloroplasty

Chloroplasty jsou parietální bez pyrenoidu - struktury pro uložení enzymu Rubisco (Rindi et al, 2006). Jsou vícečetné v jedné buňce, jejich barva je však většinou překryta oranžovou, červenou až hnědavou barvou karotenoidních pigmentů. (Fischer, 1922; Printz, 1964).

Intenzita zbarvení je zřejmě daná suchým nebo vlhkým obdobím a množstvím dopadajícího slunečního záření. O ultrastruktuře buňky a pigmentech bude pojednáno níže.

4. Ultrastruktura buňky

Ultrastruktura buněk rodu *Trentepohlia* vykazuje jisté zajímavosti. Jedná se zejména o přítomnost tzv. „Multi-layered structures“ v pohyblivých buňkách (zoosporách), dále vznik fragmoplastu při buněčném dělení, plasmodesmy v příčných přihrádkách buněk i specifický typ bičíkového aparátu. Zajímavá je též přítomnost karotenoidů v buňkách a jejich možné průmyslové využití.

4.1 Multi-layered structures (MLS)

V zoosporách druhu *Trentepohlia aurea* objevili Graham & McBride (1975) tzv. Multi-Layered-Structures (dále MLS). Tyto struktury obsahují vrstvy mikrotubulů, které jsou napojeny na bázi bičíku a slouží hlavně k udržení bičíků v buňce.

MLS *T. aurea* jsou strukturně podobné jako MLS v rozmnožovacích strukturách u *Pteridophyta* (kapařorosty) a *Bryophyta* (mechorosty), a též ve vývojových strukturách řasové linie Streptophyta.

Nicméně jen u *T. aurea* jsou MLS v každé zoospoře po dvou, zatímco v ostatních dvoubičíkatých pohyblivých buňkách se vyskytují 1x/buňku. MLS *Trentepohlia aurea* mají též méně mikrotubulů a jsou strukturně jednodušší. Rozdíly mezi MLS rodu *Trentepohlia* a MLS linie Streptophyta (zde na příkladu taxonu *Bryophyta*) jsou následující:

- Spojení s bázi bičíku se zdá být pomocí elektrondensní hmoty, která bázi bičíku pokrývá (u *Bryophyta* je spojení uskutečněno pomocí „central core“ a tripletových mikrotubulů)

- Pozice basálního tělíska bičíku vzhledem k MLS je také odlišná – u *Bryophyta* basální tělísko vzniká z 1 MLS a leží přímo nad ním. U *T. aurea* však nikdy nenajdeme basální tělísko nad MLS, naopak MLS leží po stranách basálního tělíska.
- MLS *Trentepohlia aurea* obsahují v 1. vrstvě 6-8 mikrotubulů (u *Bryophyta* více)
- U *Bryophyta* najdeme pouze 1 MLS na 1 pár bičíků, ale u *T. aurea* 2 symetricky postavené MLS na 1 pár bičíků.

4.2 Buněčné dělení pomocí fragmoplastu

Další zajímavostí je fragmoplastem zprostředkované dělení buňky (obr. 1 a 2). Fragmoplast je mikrotubulární systém, který vznikne z pozůstatků mitotického vřeténka. Uvnitř něj dojde ke vzniku buněčné destičky, která od sebe buňky oddělí. Tento typ buněčného dělení charakterizuje vyšší rostliny linie Streptophyta a některé druhy zelených řas z řádů Coleochaetales, Charales a Zygnematales, které jsou bazální ke streptofytní linii. Obecně se ale nenachází ve druhé linii zelených řas, Chlorophyta (kde dochází hlavně k dělení pomocí tzv. fykoplastu – mikrotubulární struktury vzniklé znovu po zániku mitotického vřeténka kolmo na jeho původní směr). Přesto se u čeledi Trentepohliaceae (u druhů *Cephaleuros parasiticus* a *Trentepohlia odorata*) dobře vyvinutý typ fragmoplastem zprostředkované cytokineze vyskytuje (Lopéz-Bautista et al, 2003b).

Přítomnost vícevrstevných struktur (MLS) v bičíkovém aparátu a dělení buněk pomocí fragmoplastu by mohlo naznačovat příbuznost rodu *Trentepohlia* s vývojovou linií Streptophyta (Chapman et al, 2001), a tedy homologní vývoj fragmoplastu. Dnes však již víme, že molekulární studie tuto hypotézu zcela zamítly, a naopak odhalily zařazení rodu *Trentepohlia* do třídy Ulvophyceae ve vývojové linii Chlorophyta (Lopéz-Bautista et al, 2003a). Streptofytní linie řas v evoluci směřovala k vyšším rostlinám, a proto je u nich přítomnost fragmoplastu logická. Avšak i ve chlorofytní linii v čeledi Trentepohliaceae se tento typ cytokineze nachází.

Prvním vysvětlením daného jevu se zdála být paralelní evoluce (Lopéz-Bautista & Chapman, 2003a). Mohly se ve dvou odlišných liniích řas vyvinout nezávisle na sobě podobné struktury nutné k dělení buňky? Důkazem pro tuto hypotézu byly podle Chapmana (2001) i jisté odlišnosti od streptofytního procesu a struktur, např. časové oddělení karyokineze a cytokineze u rodů *Trentepohlia* a *Cephaleuros*, vzdálená dvojkuželovitá mikrotubulová struktura a centripetální splývání váčků fragmoplastu. Navíc v rámci obou linií, chlorofytní i streptofytní (skupina Charophyta), je fragmoplastem zprostředkovaná

cytokineze většinou asociovaná s aerofytickým životem v terestrických podmínkách (Lopéz-Bautista et al, 2002).

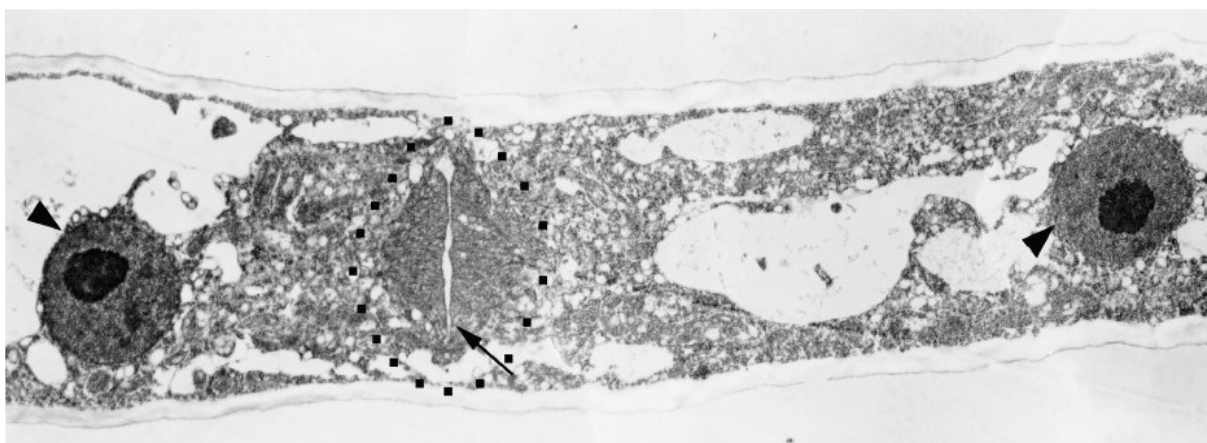
Byly však zkoumány sekvence genů pro „fragmoplastin“, protein podobný dynaminu, který je asociovaný s dělením buněk u vyšších rostlin (Lopéz-Bautista et al, 2003b). Autoři studie chtěli prokázat jeho existenci právě i u rodů *Cephaleuros* a *Trentepohlia*. Vytvořili pro tyto řasy primery na základě dostupných sekvencí fragmoplastinu ze sóji a protein u řas úspěšně amplifikovali a osekvenovali. Tím potvrdili přítomnost fragmoplastinu a dělení buněk pomocí fragmoplastu v linii Chlorofyta a zpochybnili tak pravděpodobnost paralelní evoluce. Sekvence fragmoplastinu by podle nich mohly hrát významnou roli při zkoumání evoluce fragmoplastem řízeného dělení buněk u streptofytní a chlorofytní linie.

Druhé vysvětlení nabízí možnost laterálního genového přenosu („lateral gene transfer“, dále LGT). Tento jev se ale podle Lopéz-Bautista et al (2002) nedá přímo prokázat z následujících důvodů:

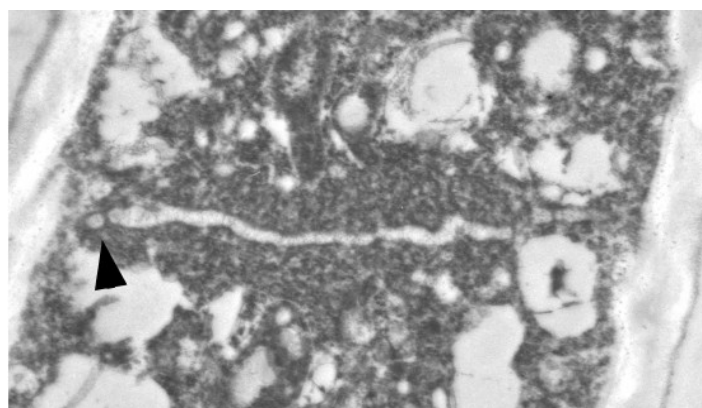
1) cytokineze za pomoci fragmoplastu nutně vyžaduje přítomnost několika genů a tudíž by se musela laterálně přenést celá formace genů.

2) u rodu *Cephaleuros*, který má velmi úzký vztah s fragmoplast-obsahujícími hostiteli - vyššími rostlinami – se přímo vybízí pravděpodobnost LGT, ale rod *Trentepohlia* takovýto vztah s vyššími rostlinami nevykazuje, ač roste epifyticky.

3) morfologie fragmoplastem řízené cytokineze u *Cephaleuros* a *Trentepohlia* není identická s cytokinezí u vyšších rostlin.



Obr. 1: Snímek dělící se buňky *T. odorata* z transmisního elektronového mikroskopu (Chapman et al, 2001). Vidíme dvě dceřiná jádra (hlavičky černých šipek) vzdálená více než 20 μm . Jsou separována fragmoplastem (ohraňčen černými tečkami), který se skládá z mikrotubulů, malých váčků a rodící se buněčné přepážky.



Obr. 2: Snímek z transmisního elektronového mikroskopu (Chapman et al, 2001). Buňka *T. odorata* je ve stádiu pozdní telofáze. Vidíme uspořádání mikrotubulů nad a pod vznikající buněčnou přepážkou a též malý váček, který je připraven s ní splynout (šipka).

Přítomnost fragmoplastu při dělení buněk řas *Trentepohlia odorata* a *Cephaleuros parasiticus* tak stále zůstává bez definitivního vysvětlení.

4.3 Plasmodesmy v příčné přihrádce

Příčná stěna rodu *Cephaleuros*, *Phycopeltis* a *Trentepohlia* obsahuje jednoduché plasmodesmy (funkční propojení buněk) o průměru 40-50 nm (Chapman et al, 2007). Ty se objevují pouze v centrální části příčné stěny a tvoří tak tzv. „central pit“. Tento útvar se zřejmě formuje již během cytokineze, neboť ho nalézáme i u velice mladých buněk. Mezi terminálním zoosporangiem a nosnou buňkou se objevuje ohraničení centrálního otvoru kruhem lehce skvrnitého stěnového materiálu, zatímco v příčných stěnách mezi vegetativními buňkami toho ohraničení chybí.

Již Brand (1902) a Fischer (1922) pozorovali v příčných stěnách buněk jakési tečky, skvrnky („Tüpfel“). Karsten (1891) popsal tyto struktury v příčných přihrádkách hákovitých sporangií jako větší kruhové ztlustliny, o kterých se domníval, že hrají důležitou roli při látkové výměně.

4.4 Uspořádání bičíku

Bičíkový aparát pohyblivých buněk rodu *Trentepohlia* má uspořádání typu anti-clockwise, nebo též counter-clockwise, CCW (López-Bautista & Chapman, 2003a). To

znamená, že konfigurace překrývajících se bazálních tělísek v bičíku zoospor je 11:5 (Lopéz-Bautista et al, 2002). Tento fakt sloužil dříve jako důkaz příbuznosti rodu *Trentepohlia* s taxonem Ulvophyceae.

4.5 Karotenoidy v buňkách

Nápadné zbarvení buněk rodu *Trentepohlia*, které náš zrak upoutá již z dálky na kůře stromů, je dáno specifickými metabolity. Dříve byly označovány jako „lipochrom“ (Fischer, 1922) či „hematochrom“ (Karsten, 1891; Hansgirg, 1886) – což je označení pro směsici karotenoidních pigmentů. Ty dávají buňce žlutou, oranžovou či červenou barvu (možné jsou i kombinace těchto barev a různé odstíny). Jaká je ale jejich úloha v buňce?

Karsten (1891) si všiml, že hematochrom je rozpustný v alkoholu a éteru a jódem se barví na modro (Brand, 1902). Zajímalo ho též, k čemu vlastně ono barvivo buňkám slouží.

Nejprve zvážil možnost, že hematochrom je zásobní látka. Proti tomuto návrhu však stál argument, že hematochrom nezmizí, ani když řasy necháme dlouho ve tmě bez možnosti výživy fotosyntézou. Povšiml si však, že množství pigmentu je zvýšené u řasových nárostů spíše v přírodě než v umělých podmínkách laboratoře. Pozoroval též nárůst množství pigmentů v sušších periodách a došel k závěru, že hematochrom má v řasové buňce funkci čistě ochrannou (též Fischer, 1922).

Teprve o několik desítek let později s rozvojem specifických metod (extrakce acetonem, chromatografická separace) bylo možné izolovat pigmenty *Trentepohlia iolithus* (Arpin & Liaaen-Jensen, 1972) a byla zjištěna přítomnost těchto látek: β,β -karoten; β,ϵ -karoten; β,β -karoten-2-ol; β,ϵ -karoten-2-ol a β,β -karoten-2,2'-diol.

V buňkách *Trentepohlia gobbii* z Dálného východu byly ještě kromě výše zmíněných karotenoidů objeveny tyto látky (Czeczuga & Maximov, 1996): 5,6-epoxy-5,6-dihydro- β,β -karoten-2-ol; 5,6-epoxy-5,6-dihydro- β,ϵ -karoten-2-ol a 5,6,5',6'-diepoxy-5,6,5',6'-tetrahydro- β,β -karoten-2,2'-diol.

Poměrně odlišné složení látek bylo izolováno z druhů *T. aurea* a *T. cucullata* v Indii (Mukherjee et al, 2009): β -karoten, neoxanthin, lutein, β -kryptoxanthin, β,γ -karoten a β,ϵ -karoten. Bylo také zaznamenáno, že obsah karotenoidů se zvýšil v zimě, kdy je obloha indického Assamu bezmračná (intensita dopadajícího světla je vyšší než v létě, kdy je obloha převážně zatažená a teploty se pohybují okolo 25°C).

Některé z těchto látek jsou poměrně vzácné karotenoidy, ale také xantofyly, vznikající z karotenů hlavně adicí hydroxylové skupiny na uhlík v pozici 5 a 5' ionového kruhu.

Sekundárně produkované karotenoidy a xantofyly v buňkách aerofytických řas vystavených velkému podílu UV - záření mají zejména fotoprotektivní roli. Nejen, že červený pigment blokuje, a tím odstiňuje modré spektrum viditelného světla, ale může též fungovat i jako antioxidant při zhášení reaktivních forem kyslíku. Ty vznikají při nadměrném ozáření a mohou poškozovat proteiny či DNA. Xantofylový cyklus se podílí na disipaci přebytečné energie ze slunečního záření na teplo, a tak se stará o ochranu fotosyntetického aparátu.

Za zmínku jistě stojí fakt, že *Trentepohlia* jako fotobiont v lišejnících s tlustou vrstvou stélky tyto karotenoidy příliš netvoří a má spíše šedavou barvu, neboť fotoprotektivní úlohu již obstarala právě vrstva kůry lišejníku (Czezcuga & Maximov, 1996). V lišejnících s velmi tenkou stélkou (jako je např. *Porina*), která již řasu neochrání, je produkce řasových karotenoidů velká, a dává tak lišejníku oranžovočervené zbarvení.

5. Rozmnožování

U rodu *Trentepohlia* známe dva typy rozmnožování, a to pohlavní a nepohlavní.

Vegetativní (nepohlavní) rozmnožování je častější, odehrává se rozpadem stélky do více fragmentů, které postupně dorůstají.

V rámci sexuální (pohlavní) reprodukce dochází ke střídání diploidního sporofytu a haploidního gametofytu. Jsou známy tyto rozmnožovací struktury: diploidní zoosporangia, v nichž vznikají meiozou haploidní čtyřbičíkaté zoospory, které dají vyklíčením vzniknout gametofytu, a haploidní gametangia produkující dvoubičíkaté gamety (obr. 3). Ty isogamicky fúzí za vzniku opět diploidní zygoty, z níž vyrostе sporofytní generace. Takový životní cyklus se někdy označuje jako isomorrická alternace (Rindi et al, 2005; Lopéz-Bautista et al, 2002).

Rindi et al (2005) však našel v herbářové sbírce *T. arborum* zoosporangia i gametangia na jedné stélce, což je v kontrastu s výše zmíněnou isomorrickou alternací.

Gametangia i sporangia mohou být kulovitá až vejčitá, v pozici laterální (postranní, boční), terminální (koncové) či interkalární – vmezežené mezi vegetativními buňkami (de Wildeman, 1891). Tvorba těchto rozmnožovacích struktur by mohla být ovlivněna sezónou, teplotou, vlhkostí či drastickou změnou životních podmínek (Rindi & Guiry, 2002).

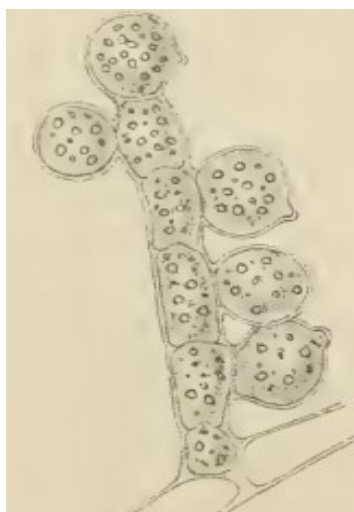
5.1 Typy rozmnožovacích struktur

Někteří autoři (Fischer, 1922; Brand, 1902; Printz, 1964) rozpoznávají různé typy sporangií a gametangií. Kulovitá (obr. 4) a lahvovitá (obr. 5) gametangia vznikají zvětšením buňky vegetativní, nejsou umístěny na zvláštní nosné buňce, lahvovitá mají protáhlý krk.

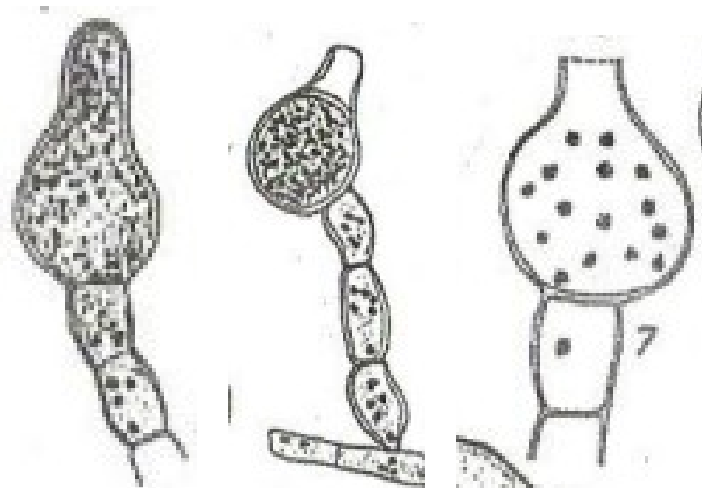
Sporangia jsou nesena podpůrnou buňkou. Mohou být hákovitá (obr. 6), která vznikají tak, že terminální buňka vyžene do strany výběžek, jehož koncová část se zvětší ve sporangium – vzniká tedy sporangium na zahnuté nosné buňce. Trychtýřovitá sporangia (obr. 7) popsal poprvé Brand (1902) - jsou příčně oválná a od hákovitých sporangií se liší též přítomností 2 naproti sobě ležících trychtýřovitých celulóznych kroužků mezi sporangiem a nosnou buňkou.



Obr. 3: Zleva: gametangium a dvoubíčíkaté gamety *T. umbrina* (Karsten, 1891), totéž (Printz, 1964)



Obr. 4: Kulovité gametangium *T. bisporangiata* (Karsten, 1891) – dnes *T. arborum*



Obr. 5: Lahvovité gametangium *P. lagenifera* (Printz, 1964)



Obr. 6: Zleva: hákovité sporangium *T. negeri* (Brand, 1902); Hákovité sporangium *T. abietina* (Karsten, 1891); 3 hákovitá sporangia *T. arborum*, snímek ze skenovacího elektronového mikroskopu (Salleh & Milow, 1999)

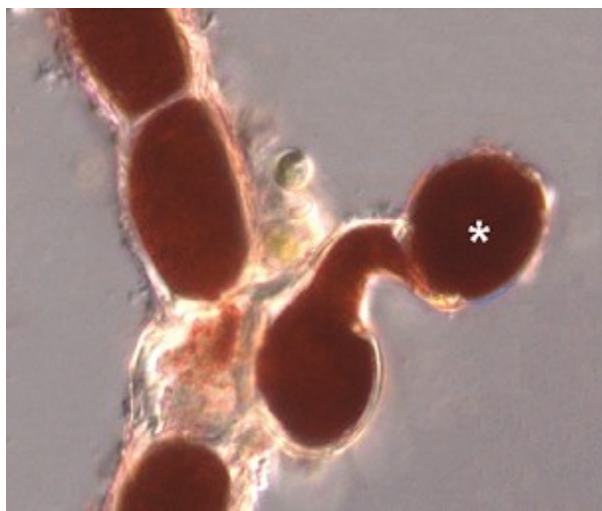
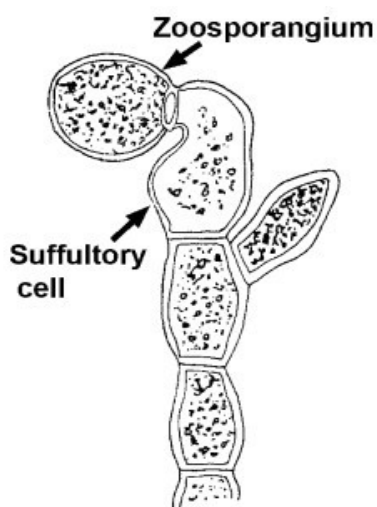


Obr. 7: Vývoj trychtýřovitého sporangia *T. annulata* (Printz, 1964)

S aerofytickým způsobem života však úzce souvisí i přítomnost tzv. laterálního sporangia („sporangiate-lateral“ – obr. 8), které popsali Thompson & Wujek (1992) – modifikované laterální větve nesoucí sporangium. Ta sestává z terminálního sporangia na zahnuté podpůrné buňce („suffultory cell“), která je zespoda nateklá a směrem vzhůru se zužuje do krku nesoucího sporangium. Tento popis se však velmi podobá popisu Brandova (1902) hákovitého sporangia, vztahy mezi těmito strukturami jsou tedy zmatené (možná ovlivněné bariérou v podobě německého jazyka, kterým je psáno dílo Brandovo. Němečtí vědci minulého století povětšinou rozpoznávali sporangium hákovité („Hakensporangium“) a trychtýřovité („Trichtersporangium“), zatímco novodobí anglicky píšící autoři označují sporangia jednotně jako laterální.).

Kontakt sporangia a podpůrné buňky je oslabován příležitostným zvlhčováním a vysušováním, čímž se sporangium snadno oddělí. U sporangií se tedy předpokládá odtržení od vlákna pomocí oslabení příčné příhrádky, a teprve potom následné vypuštění zoospor, kdežto gamety jsou vypouštěny, ještě když je gametangium v kontaktu s mateřským vláknem (Printz, 1964).

Vypouštění čtyřbičíkatých zoospor se děje za přítomnosti vody – při dešti či zvlhčení, kdy praskne papilární pór v důsledku nasátí vody a pohyblivé zoospory se vyrojí a chvíli rejdí po substrátu. Poté se usadí a vyklíčí v nové vlákno. Pomocí deště a větru se však nerozšiřují jen zoospory. Takto mohou být přenášena přímo celá odtržená sporangia. Ta pak mohou být dále rozšířena hmyzem, větrem a dešťovými kapkami (Rindi et al, 2006).



Obr. 8: Zleva: nákres laterálního sporangia s podpůrnou buňkou (Rindi et al, 2006); totéž na fotografii *T. iolitus* var. *yajiagensis* (Liu et al, 2012), zoosporangium je označeno bílou hvězdičkou.

Zoospory tedy po vyrojení klíčí na substrátu. Tak dají vznik novému gametofytnímu vláknku, zatímco gamety by měly splynout v zygotu a vytvořit diploidní sporofyt. Ačkoliv jsou gamety pohlavní generace, jejich kopulace byla pozorována pouze zřídka (Hansgirg, 1886).

Gamety mohou též klíčit bez předchozí kopulace, což bylo pozorováno mnohem častěji (Karsten, 1891; Fischer, 1922; Printz, 1964; Rindi & Guiry, 2002). Rindi & Guiry (2002) například nebyli schopni prokázat sexuální reprodukci v populacích *Trentepohlia* v západním Irsku. Místo toho pozorovali právě dvoubíčíkaté gamety, které se chovaly jako asexuální spory a reprodukovaly tu samou morfologickou fází, neodehrávala se tedy izomorrická alternace.

Proč bylo vlastně sexuální fúzování gamet pozorováno pouze několikrát za celou dobu zkoumání druhu? Někteří autoři řeší tuto otázku pomocí následující teorie: mnoho druhů rodu *Trentepohlia* je heterothalických (pohlavně odlišných) a sexuální fúze gamet se tak může odehrát pouze za přítomnosti gamet opačných pohlaví (Karsten, 1891; Printz, 1964; Rindi & Guiry, 2002). Je také možné, že k navození pohlavního rozmnožování je zapotřebí specifických environmentálních podmínek.

5.2 Osídlení substrátů v závislosti na typech rozmnožovacích struktur

Zajímavé je určitě porůstání substrátů z hlediska sklonu, a to právě ve vztahu rozmnožovacím strukturám. Brand (1902) pozoroval, že některé druhy (jako *T. umbrina* a *T. aurea* – mají lahvovitá gametangia) nikdy neviděl růst na jiném než vertikálním substrátu, jako jsou kmeny stromů a zdi. Soudil, že by to mohlo souviset s typem rozmnožovacích struktur.

Na vertikálním substrátu se řasy rozšiřují zejména pomocí dešťové vody, která stéká dolů a odnáší s sebou rozmnožovací struktury. Proto také tak často vidíme v přírodě na kůře stromů, dřevu či zdech svislé pruhy stélek rodu *Trentepohlia*, nápadné již z dálky díky jejich zbarvení karotenoidy.

Avšak některé typy sporangií (jako třeba trychtýřovité) jsou zřejmě přímo určeny k rozšiřování větrem, a proto druhy, které je vytváří, mohou porůstat i horizontální plochy jako příčně uřezané pařezy smrků a skály, jak tomu je v případě *T. annulata*.

5.3 Úskalí zkoumání rozmnožovacích struktur

Rozmnožovací útvary byly odedávna důležité pro taxonomii rodu *Trentepohlia*. Tyto struktury však řasy tvoří zejména v přírodě. Problémem zkoumání rozmnožování tedy určitě zůstává pomalý růst druhů rodu *Trentepohlia* a skoro nulová tvorba rozmnožovacích struktur v kulturách. To nám neumožňuje porozumět vztahům mezi vlákny produkujícími zoosporangia a vlákny produkujícími gametangia, ani typům rozmnožovacích struktur obecně (Rindi et al, 2005; Rindi & Lopéz-Bautista, 2007).

6. Druhy rodu *Trentepohlia* rostoucí v České republice (popisy založeny zejména na zkoumání Fischera (1922), Branda (1902) a Printze (1920, 1964))

Česká republika jako temperátní oblast hostí jen omezené množství druhů rodu *Trentepohlia*. Podle Fischera (1922) rostou na území Moravy a západního Slezska tyto druhy: *T. annulata*, *T. abietina*, *T. arborum*, *T. aurea*, *T. uncinata*, *T. iolithus*, *T. lagenifera* (dnes *Printzina lagenifera*) a *T. odorata* (*T. umbrina*).

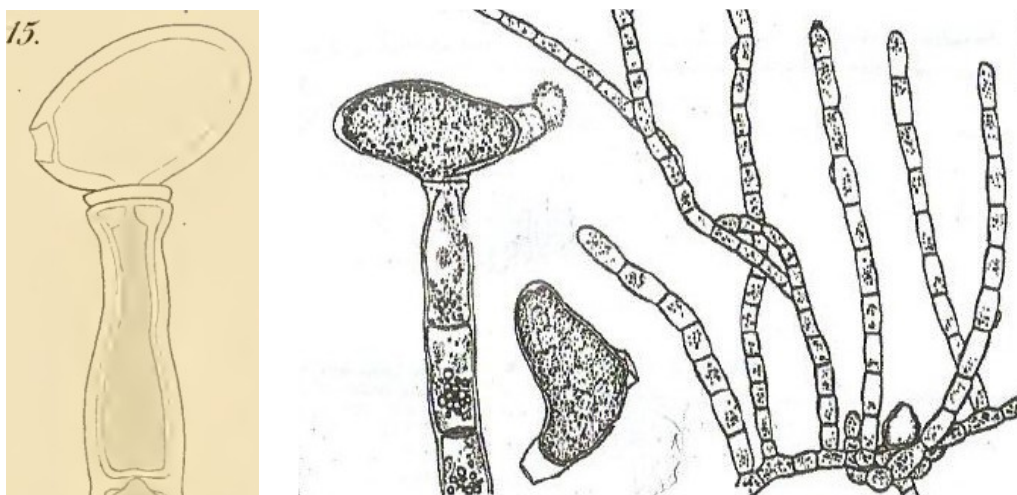
- *Trentepohlia annulata* Brand

Popis tohoto druhu se téměř neliší u autorů Fischer (1922), Printz (1964) a Brand (1902). Stélka bývá hnědavá až žlutozelená. Větve jsou 1mm (max. 1,5mm) vysoké, vlákna hojně rozvětvená. Vzpřímená vlákna obsahují cylindrické až soudečkovité buňky, 1,5 - 3x tak dlouhé jako široké, 9,5-19 μm (max. 24 μm) široké. Membrána je vrstvená, s „tečkami“ na příčné přehradce. Konce vzpřímených vláken jsou buď obalené celulózní čepičkou, nebo nesou zoosporangia (Brand, 1902).

Zoosporangia jsou trychtýřovitá (obr. 9), příčně oválná, rostou terminálně na vzpřímených vláknech, jsou podepřená subsporangialní nosnou buňkou. Jejich průměr uvádí Fischer (1922) jako: 20-24 μm šířka a 43-46 μm délka, zato Printz (1964) takto: šířka 7-38 μm a délka 30-58 μm . Sporangia tvoří čtyřbičíkaté zoospory. Gametangia se vyskytují zřídka, laterálně nebo terminálně na větvích stélky, jsou kulatá či eliptická, s 6-7 μm tlustou, koncentricky vrstvenou membránou. Jsou 29-52 μm dlouhá a 16-30 μm široká.

Druh roste na vlhkých stinných místech. Printz (1964) uvádí jako substrát dřevo, zejména kmeny listnáčů i jehličnanů, Fischer (1922) zase skalní masivy v rozmezí 450-750 metrů nadmořské výšky. Též uvádí jako klasické místo růstu *T. annulata* horizontální plochy pařezů

smrků. Brand (1902) to považuje za charakteristický znak tohoto druhu, který podle něj souvisí s rozšiřováním trychtýřovitých sporangií pomocí větru. Kromě smrkových pařezů porůstá *T. annulata* také kmeny a dále kořeny smrků, které jsou nad zemí obnažené. Na jiných stromech než na smrcích zatím nebyla nalezena (Fischer, 1922).



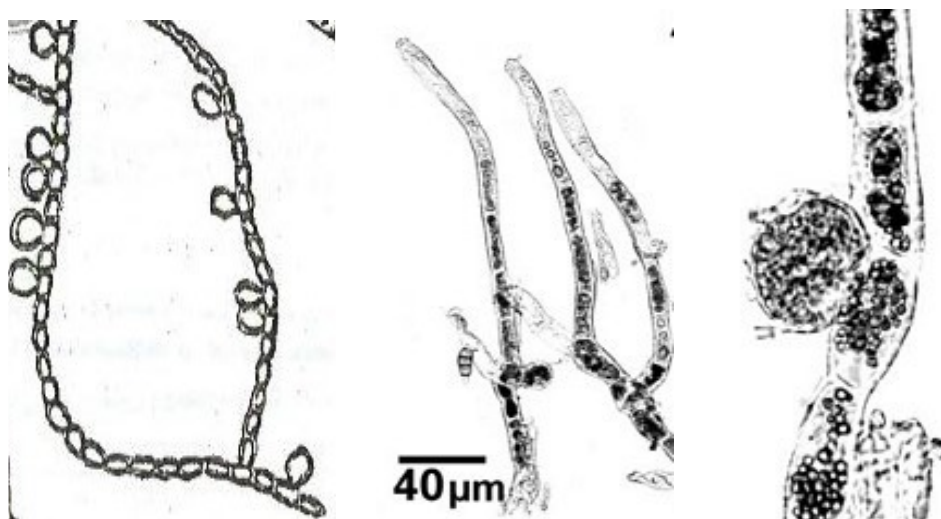
Obr. 9: *T. annulata* , zleva: trychtýřovité sporangium (Brand, 1902); stélka s trychtýřovitým zoosporangiem a bazálním gametangiem na stélce (Printz, 1964)

- *Trentepohlia abietina* (Flotow) Hansgirg

Stélka tvoří červenavý až zlatožlutý tenký povrch, její větve jsou většinou výrazně zakřivené. Buňky prostrátních vláken u podkladu a spodní buňky vzpřímených vláken jsou mírně nateklé, jinak cylindrické, 4-10 μm široké a 1-3x tak dlouhé. Rindi et al (2006) uvádí tyto rozměry: buňky vzpřímených vláken jsou cylindrické, 7-10 μm široké a 1,5-5x tak dlouhé; buňky prostrátních vláken jsou kulovité až eliptické, v průměru 8-12 μm . Buněčná stěna na špičkách vláken je poměrně tlustá, celulózní čepička slabě vyvinutá.

Gametangia laterální (obr. 10) či terminální. Zoosporangia kulovitá – eliptická, průměr 10-20 μm (Brand, 1902, Fischer, 1922; Printz, 1964). Fischer (1922) zkoumal vzorek *T. velutina* ze sbírky Hansgirga a měl za to, že tento druh neexistuje, ale jedná se právě o druh *T. abietina*.

Ta roste zejména ve vlhkých zastíněných habitatech, a to hlavně na kůře různých jehličnanů (Hansgirg (1886) uvádí *Abies pectinata* a *Picea*), Printz (1964) pozoroval její výskyt i na listnácích. Dále roste na skalách. Její lokalizace spadá nad 450 m.n.m. (Fischer, 1922).



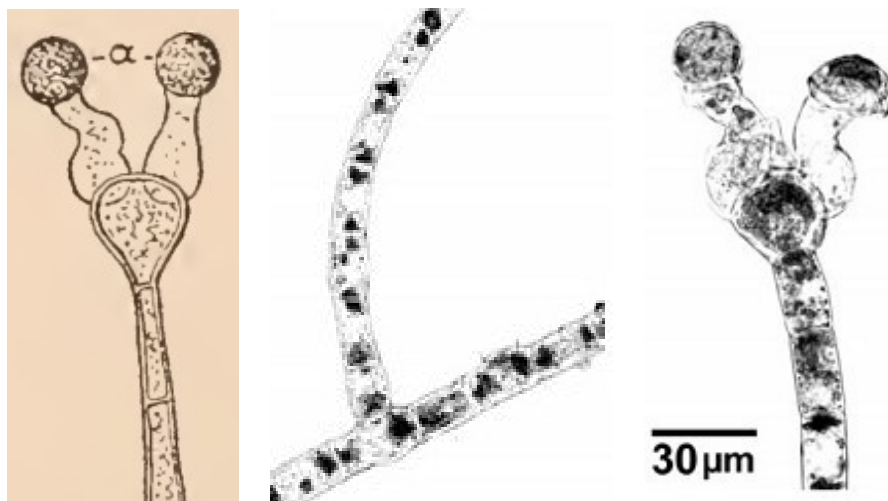
Obr. 10: *T. abietina*, zleva: kresba stélky s gametangii (Printz, 1964); detail vzpřímených vláken; laterální gametangium (Rindi et al, 2005)

- *Trentepohlia arborum* (Agardh) Hariot

Vzpřímená vlákna jsou dlouhá a větví se v pravém úhlu. Vlákna se na koncích ztenčují. Buňky jsou 13-20 µm (max. 28 µm) široké a 1-3x tak dlouhé. Koncové buňky větví, které nenesou sporangia, jsou prodloužené a zašpičatělé. Membrána je bezbarvá či slabě žlutá, konvergentně vrstvená a hrubá.

Gametangia jsou osamocená či po 2-3 laterálně, nebo mohou být ve větším či menším počtu umístěna na postranní větví. Zoosporangia se otevírají pórem, který je lokalizován naproti místu jejich upevnění. Jsou kulovitá až vejčitá, jejich šířka je 18-24 µm a délka 24-35 µm (Fischer, 1922, Printz, 1964). Jsou nesená zahnutými subsporangialními buňkami po 2-8 na silně nateklé koncové buňce (obr. 11). Může se stát, že dokonce některá subsporangialní buňka ve shluku nese sporangium, ale prorůstá ve vegetativní vlákno, které na svém konci tvoří nové sporangium. Větvení v úhlu 90° a laterální sporangia ve shluku po 2-8 na zvětšené apikální buňce jsou uváděna jako dobrý rozlišovací znak napříč různými (i novodobými) zdroji (Rindi et al, 2008).

Druh je velmi rozšířen v tropech, u nás roste pouze ve sklenících, kde porůstá parapety, ale i kmeny a listy rostlin.



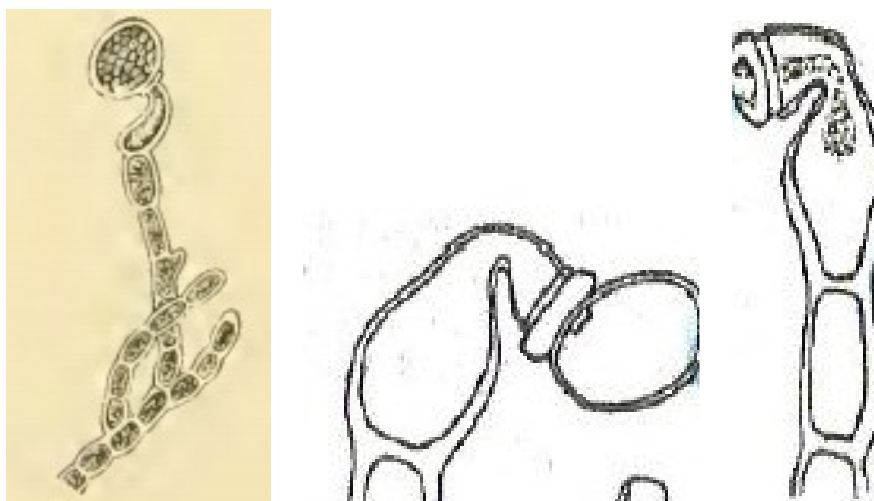
Obr. 11: *T. arborum* , zleva: charakteristická sporangia (Hariot, 1889); větvení stélky v úhlu 90°; sporangia na nosné buňce (obojí Rindi et al, 2005)

- *Trentepohlia uncinata* (Gobi) Hansgirg

Tvoří hnědavá, červeno-žlutá či žlutozelená tenká vlákna. Delší vzpřímená vlákna jsou více či méně bohatě rozvětvena, krátká vlákna se většinou nevětví. Buňky hlavních vláken jsou 15-23 μm (max. 25 μm) široké a 1-2,5 tak dlouhé, v příčných stěnách často „sešňěrované“.

Gametangia mají tlustou rozeklanou membránu, jsou většinou vejčitá, 20-35 μm široká a až 50 μm dlouhá, většinou se nachází po více kusech na prostrátních vlákních (Fischer, 1922; Printz, 1964). Gamety dvoubíčíkaté, 5-7,5 x 0-15 μm . Jejich kopulace neznámá, partenogenetický vývoj oproti tomu ano (Printz, 1964). Zoosporangia jsou oválná – eliptická, 15-24 μm široká a 24-28 μm dlouhá. Většinou umístěna po jednom, zřídka po dvou na jedné subsporangialní buňce (ta má zahnutý krk, který vychází ze středu nateklé části – obr. 12). V každém sporangiu se tvoří 8-16 spor, které jsou 5-8 μm široké a 12-15 μm dlouhé (Printz, 1964).

Roste zejména v horách na kmenech a obnažených kořenech stromů jehličnanů (*Picea*, *Abies*) a listnáčů (*Sorbus*, *Fagus*), a to v rozmezí 700-1200 metrů nadmořské výšky.



Obr. 12: *T. uncinata*, zleva: rozvětvená stélka, z lahvovité subsporangiální buňky vyrůstá téměř kulovité zoosporangium (Hansgirg, 1886); detail téměř kulovitého zoosporangia; subsporangiální buňka po odtržení zoosporangia (obojí Printz, 1964)

- *Trentepohlia aurea* (Linné) Martius

Stélka tvoří zlatožluté – oranžovočervené nárosty. Prostrátní vlákna sestávají z cylindrických či mírně nateklých buněk, vzpřímená vlákna také z buněk cylindrických a jsou maximálně 500 μm dlouhá. Vlákna bývají více či méně bohatě větvená. Buňky jsou obvykle 10-24 μm (max. 30 μm) široké a 1,5 - 3x tak dlouhé. Membrána buněk je divergentně vrstvená, což je v živém stavu buňky obtížně poznat. Celulózní čepičky jsou zvláště tvarované – jako zhruba 30 μm dlouhý a asi 10 μm široký cylindr. Během růstu se často posunou do strany.

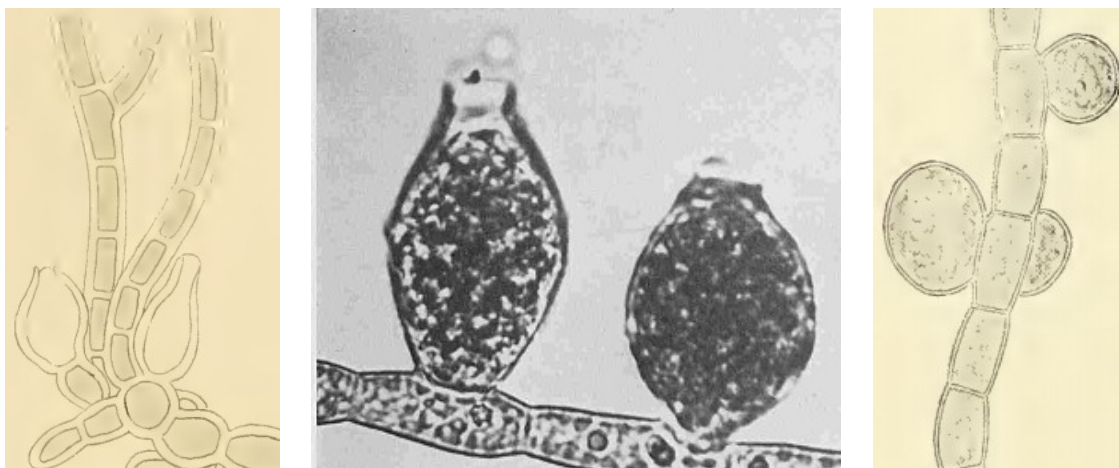
Gametangia 9-40 μm v průměru, většinou jsou kulovitá či eliptická (obr. 13). Jsou umístěna jak na prostrátních, tak i na vzpřímených vlákních, a to laterálně, terminálně či zřídka interkalárně (Fischer, 1922; Printz, 1964). Gamety měří většinou 5-10 μm a jsou dvoubíčíkaté. Partenogenetické klíčení bylo prokázáno (Printz, 1964). Zoosporangia oválná, 25-30 μm široká a 27-40 μm dlouhá, většinou po jednom, zřídka po dvou upevněná na subsporangiální buňce, která má zahnutý krk, vycházející z nenateklého středu.

Roste na skalách, dřevě, kmenech stromů. Ve střední Evropě je to nejhojnější druh rodu *Trentepohlia* (Printz, 1964). Můžeme rozlišit několik variet:

- a) Var. *tomentosa* Kützing – tvoří polštářovité povlaky, hustě spletené, 4-6mm tlusté. Za sucha je žlutavá. Byly na ní poprvé pozorovány celulózní čepičky (Brand, 1902).

b) Var. *lanosa* Kützing – kučeravá vlákna, spletená dohromady, byla zaměňována s *T. uncinata*.

c) Var. *subsimplex* De Toni – vzpřímená vlákna jednoduchá, nebo vybavená jednou či dvěma krátkými větvemi.



Obr. 13: *T. aurea*, zleva: stélka s lahvovitými gametangii (Brand, 1902); sesilní gametangia (Graham & McBride, 1975); stélka s laterálními gametangii (Printz, 1920)

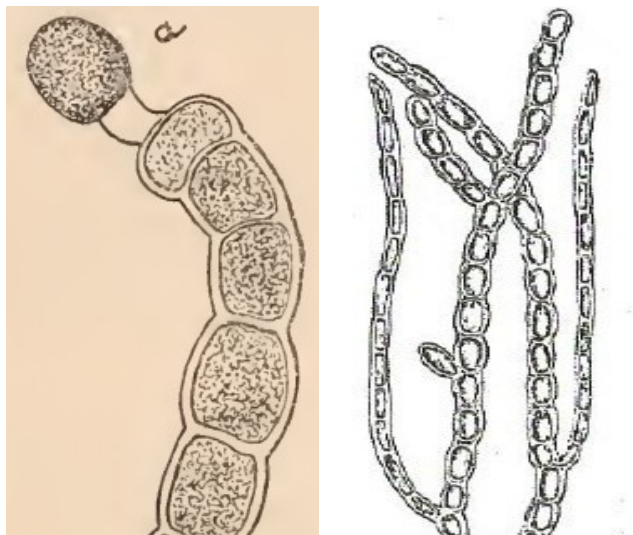
- *Trentepohlia iolithus* (Linné) Wallroth

Vytváří červenohnědé, většinou tenké (ale i 2mm tlusté) povlaky, které těsně přiléhají k podkladu a údajně voní po fialkách (Fischer, 1922). Rozdíl mezi prostrátními a vztyčenými vlákny není patrný, někdy mohou mít prostrátní vlákna o něco nateklejší buňky. Rozpad vláken většinou nenastává. Vlákna jsou bohatě a nepravidelně větvená, jsou propletená a zamotaná. Větve běží většinou paralelně s hlavními vlákny a vyrůstají z vrchní části mateřské buňky. Membrána hlavních vláken je tlustá, vnější část je vrstvena trychtýřovitě. Příčné přihrádky s tečkami (Brand, 1902). Buňky soudečkovité a tlustostěnné, ve středu mírně nateklé, 12-35 μm široké a 1-2x (koncové buňky až 6x) tak dlouhé.

Gametangia v průměru 36-42 μm . Zoosporangia jsou kulatá s průměrem 20-48 μm , nebo vejčitá, a pak mají rozměry: 36-42 μm šířka, 45-54 μm délka. Leží na hákovitě zahnuté subsporangialní buňce (obr. 14).

Roste na kamenech a skalách mezi 700-1300 m. n. m. Většinou sleduje potůčky, tekoucí po skalách. V nižších polohách je méně vyvinutá. Říká se jí „Veilchenstein“ (fialkový kámen) podle její typické vůně (Printz, 1964). Tento typ se může rozlišovat na variety:

- a) Var. *bovina* (Flotow) Rabenhorst – tvoří tenký, skoro práškovitý povlak, rezavý či krvavě červený. Jedná se možná jen o mladou formu typického druhu.
- b) Var. *betulina* (Rabenhorst) Hariot – buňky eliptické, tlustostěnné, tvoří výrazná vlákna. Roste především na břízách.



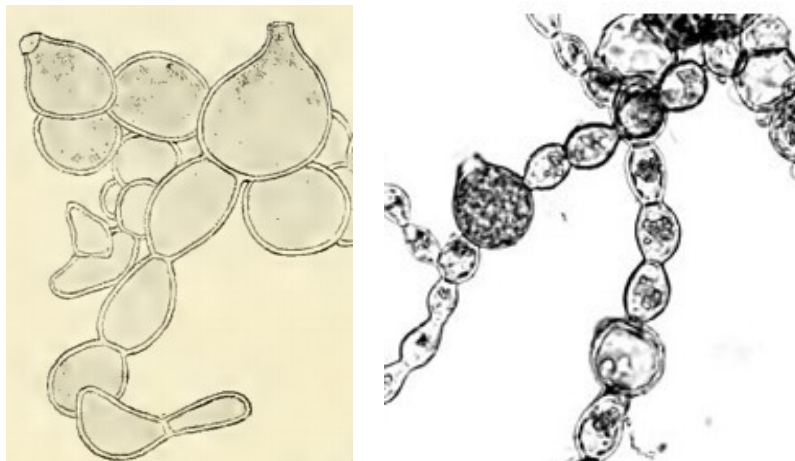
Obr. 14: *T. iolithus*, zleva: vlákno se sporangiem (Hariot, 1889); kresba stélky (Printz, 1964)

- *Printzina lagenifera* (Thompson & Wujek 1992) – dříve *Trentepohlia lagenifera* (Hildebrand) Wille

Tvoří povlaky v barvě žluté-olivově zelené či zlaté-oranžovo žluté. Vlákna jsou velmi nepravidelně větvená a dají se lehce rozmělnit. Co do formy a tloušťky jsou vlákna proměnlivá, rozdíl mezi prostrátními a vztyčenými vlákny je nepatrný (Fischer, 1922). Buňky jsou polymorfické, někdy jen 3-6 μm , jindy až 19 μm široké, kulovité, soudečkovité či cylindrické. Mohou být 1-4x, zřídka až 8x tak dlouhá jako široká. Rindi et al (2005) uvádí rozměry: šířka 6-12 μm a délka 1-3x tolik.

Gametangia jsou charakteristická, mají lahvovitý tvar (obr. 15). Jsou 9-24 μm široká a nesou 16, 32 nebo 64 Gamet (Printz, 1964). Gametangia mohou být uložena terminálně i interkalárně, po jednom či po dvou v řadě. Gamety jsou pak oválné, někdy lehce zahnuté, 4,8-5,8 x 8-10 μm . Zoosporangia se tvoří jen zřídka, sedí na zvláštních větovitých vláknech (sporangioforech), jsou oválná či téměř kulovitá, 15,7-17,8 x 17,5-20 μm . Subsporangialní buňky jsou cylindrické a charakteristicky zahnuté.

Druh je velmi rozšířen v tropech, a mimo tuto zónu se nachází ve sklenících na listech rostlin, ale i na zdech, prknech a na zemi. Pravděpodobně velmi polymorfický druh, který vykazuje různou škálu barev, osídlených habitatů i vzorců větvení (Rindi et al, 2006).



Obr. 15: *P. lagenifera*, zleva: lahvovitá gametangia na stélce *P. lagenifera* var. *africana* (Printz, 1920); habitus stélky *P. lagenifera* s interkalárním lahvovitým gametangiem (Rindi et al, 2005)

- *Trentepohlia odorata* (Wiggers) Wittrock

Tvoří plstnaté červeno žluté -červené či oranžové povlaky. Vlákna rozdělená na prostrátní a vzpřímená, rozvětvená. Buňky jsou většinou soudečkovité (Fischer, 1922), Printz (1964) uvádí i eliptické či cylindrické. Mají šikmou či koncentricky vrstvenou membránu, bývají 15-30 μm široké a 1-1,75x tak dlouhé. Celulózní čepičky malé.

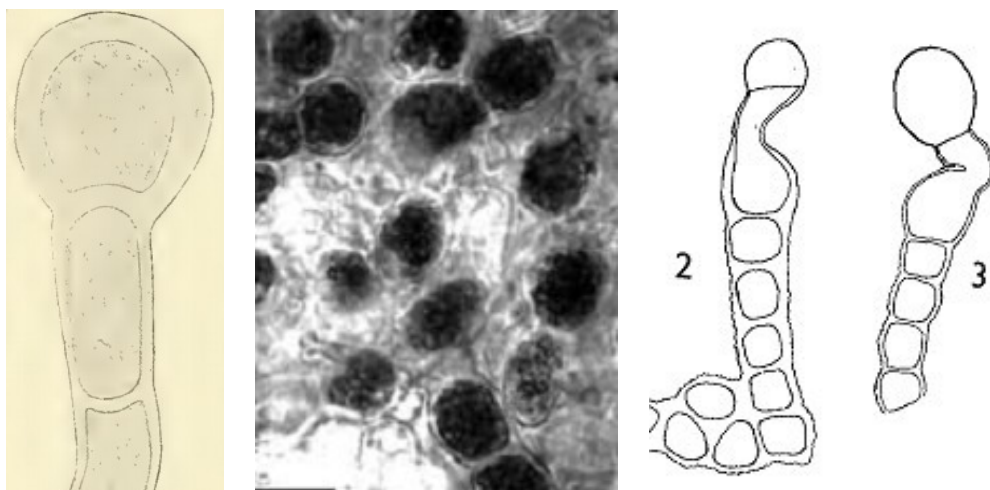
Gametangia jsou skoro kulovitá - elipsoidní, 30-40 μm (15-50 μm) v průměru (obr. 16). Jsou uložena laterálně, terminálně či interkalárně. Zoosporangia podobných rozměrů. V živém stavu může vonět po fialkách (Fischer, 1922; Printz, 1964).

Rozlišujeme variety *elongata* a *umbrina*, přičemž vztah var. *umbrina* ke druhu *T. odorata* je nejistý. Cribb (1958; 1964) pozoroval, že *T. umbrina* a *T. odorata* nesou mnoho společných znaků a téměř nejsou rozlišitelné jako 2 druhy, a tudíž soudil, že je lépe ponechat formu *umbrinu* jako varietu druhu *T. odorata*. Více autorů se však kloní k vyčlenění var. *umbrina* do samostatného druhu - *Trentepohlia umbrina* (Hansgirg, 1886; Hariot, 1889; Karsten, 1891; i novodobé studie – Rindi et al, 2006). Je zjevné, že k určení přesných vztahů v rámci tohoto druhu potřebujeme více dat, zejména na molekulárně fylogenetické úrovni.

- a) Var. *elongata* (Bleisch) Fischer – stélku tvoří malá vlákna, červená až červenohnědá, hedvábně lesklá. Jsou sestavená hlavně z prostrátních vláken, skromně rozvětvených. Mladá vlákna jsou často ztenčená a málo rozvětvená. Buňky 22-31 μm široké, až 2x tak dlouhé, většinou soudečkovité, kromě toho i tenčí, cylindrické, se šířkou 10-20 μm , které jsou 4x tak dlouhé. Gametangia jsou kulovitá, tlustší než vegetativní buňky (až 45 μm v průměru). Roste na kůře listnáčů i jehličnanů.
- b) Var. *umbrina* – (Kützing) Fischer – tvoří tenký, zřídka až 2mm tlustý červenohnědý povlak, který se lehce rozmělní. Mezi vzpřímenými a prostrátními vlákny prakticky není rozdíl. Vlákna jsou krátká (málo buněk) a nevýrazná, málo a nepravidelně větvená. Lehce se rozpadají na jednotlivé buňky či skupiny buněk. Buňky jsou kulovité či oválné - eliptické s koncentricky vrstvenou membránou. Jsou 7-35 μm (nejčastěji však 15-27 μm) široké a 1-2x tak dlouhé. (Fischer, 1922; Printz, 1964) Gametangia jsou podobná vegetativním buňkám (Brand, 1902), většinou lahvovitá, s krátkým krkem. Gamety 4-8 x 9-13 μm , mohou klíčit bez předchozí kopulace. Zoosporangia jednotlivě, nesou zoospory se čtyřmi bičíky (Printz, 1964). Fischer (1922) pojal druh *T. umbrina* jako formu *T. odorata*, protože se domníval, že se jedná o jakousi mezi-formu či mezi-stádium typické *T. odorata*.

U tohoto druhu bývá výrazná tendence ke zkracování vláken a k jejich rozpadu na jednotlivé buňky či skupiny buněk na jedné straně (var. *umbrina*), na straně druhé naopak k prodlužování vláken spolu se zúžením a prodloužením buněk (var. *elongata*, dříve popsána jako *T. bleischii*).

Z typické formy *T. odorata* se tedy odvozuje její prodloužená varieta *elongata* a zkrácená varieta *umbrina*. (Fischer, 1922). Obě tyto variety rostou na kůře listnáčů i jehličnanů, méně už na skalách.



Obr. 16: Zleva: terminální gametangium *T. umbrina* (Printz, 1920); habitus stélky *T. umbrina* (Rindi et al, 2006); vývoj sporangia *T. odorata* (Cribb, 1958)

7. Zvláštnosti růstu a přírodní úkazy spojené s namnožením rodu *Trentepohlia*

7.1 Epizoické nárosty

Cribb (1964) pozoroval v Queenslandu při odběru vzorků z kmenů stromů pavouka *Stephanopsis scabra*, který byl posetý malými oranžovými tečkami. Ty se při bližším ohledání ukázaly být vlákny *T. abietina* (Flotow) Hansgirg f. *crassisepta* (Karsten), která strom porůstala. Cribb (1964) měl za to, že se mohlo jednat o aktivní a velmi efektivní kamufláž pavouka.

Suutari (2010) předložil molekulární studii společenství mikroorganismů v chlupech lenochodů z centrální a jižní Ameriky. Sekvenování odhalilo bohatou přítomnost zelených řas, mimo jiné i zástupce rodů *Trentepohlia* a *Printzina*. Chlupy lenochodů absorbují vodu jako houba, a tvoří tak ideální prostředí pro řasy. Řasy naopak mohou sloužit lenochodům jako kamufláž, další hypotézy se zabývají třeba redukcí dopadajícího světla na lenochody díky řasám a možná i kooperaci v podobě difuze živin z buněk řas do kůže lenochoda.

7.2 Epilitické nárosty a estetické důsledky

Druhy rodu *Trentepohlia* často porůstají kamenné či umělé substráty jako beton, cement a kov. Tím mohou narušovat estetický vzhled nejen obytných budov, ale i památek. V Singapuru porůstá *T. odorata* betonové substráty a působí tak oranžový vzhled budov, a tím i nutnost urychlit jejich přemalování (Lee et al, 1990; Rindi & Guiry, 2002).

Památky, jako jsou např. Mayské monumenty, mohou být také kolonizovány rodem *Trentepohlia* (Gaylarde et. al, 2006). Zde řasy působí nejen narůžovělé zbarvení (patinu) způsobené řasovými karotenoidy, ale i lokální eroze („pitting“). Biodeteriorace pamětihodností řasami a jinými organismy může být vážný problém při snaze o restaurační a konzervační práce (Macedo et al, 2009), a též problém z hlediska estetického dojmu – narušení původní barvy, vytvoření inkrustací a patiny (obr. 17).



Obr. 17: Kolonizace památek rodem *Trentepohlia* (Macedo et al, 2009). Jedná se o stěnu stavby Palácio Nacional de Pena, Sintra (Portugalsko)

I když je kolonizace památek řasami zjevný problém, může sloužit i k výzkumu lokalizace a růstu řas v souvislosti se srážkami a intenzitou dopadajícího světla. V Mexiku byly studovány řasami obydlené vápencové Mayské monumenty (Morales & Gaylarde, 2012). Ukázalo se, že orientace budov hraje roli v prostorové distribuci řas. *Trentepohlia* upřednostňovala severně a východně směřující stěny vystavené mnohem menšímu stupni sluneční radiace, což umožňuje lepší využití vody. Oproti tomu sinice rezistentní k dehydrataci a UV tvořily tmavé patiny na více ozářených stranách na jihu a západě. Na zdech se také vyskytovala *Trentepohlia* v asociaci s houbami, tvořící lišejníky.

7.3 Rod *Trentepohlia* jako fotobiont lišejníků

Ačkoliv se mnoho studií zaměřuje hlavně na kokální zelené řasy a sinice v asociaci s lišejníky-tvořícími houbami, druhy čeledi Trentepohliaceae jsou též častými fotobionty řady

lišejníků (Bornet, 1873; Müller, 1882; Hariot, 1889; Hawkswort & Santesson, 2011), zejména lišejníků s vláknitou stélkou. Skoro $\frac{1}{4}$ všech lišejníky-tvořících hub asociuje s fotobiontem z čeledi Trentepohliaceae, a to poněkud více v tropech - cca 45% (Nelsen et al, 2011). V temperátních oblastech jejich počet klesá (cca 9%), a na Antarktidě je znám pouze 1 druh s takovýmto symbiontem.

Lišejníky s fotobiontem rodu *Trentepohlia* také zřejmě odpovídají výrazněji na změny teplot a znečištění ovzduší (Aptroot & Herk, 2007). Lišejníky jsou obecně velmi citlivé na změny čistoty vzduchu a jejich monitoring přispívá k odhadům kvality ovzduší v jednotlivých lokalitách. Nicméně i nezávisle na znečištění ovzduší byl v Nizozemí zaznamenán nárůst počtu teplomilných a subtropických druhů lišejníků (zejména s fotobiontem z čeledi Trentepohliaceae) již po několik dekád. Tento jev se dá očekávat i v jiných temperátních oblastech.

Například i aktuální studie (Nelsen et al, 2011; Marini et al, 2011) potvrzují, že počet lišejníků s fotobiontem z čeledi Trentepohliaceae v mírném pásmu nyní narůstá kvůli globálnímu oteplování.

Marini et al (2011) se zabýval též vlivem lesního managementu na lišejníky s rozdílnými fotobionty. Lesní práce (pravidelné prořezávání lesa pro získání palivového dříví) zřejmě nejvíce ovlivňují lišejníky, jejichž fotobionty jsou zelené kokální řasy a pravděpodobně i sinice. Lišejníky s Trentepohliaceae jako fotobionty pozitivně odpovídají na globální oteplování, zatímco intenzivní lesní management na ně nemá větší vliv.

Dalším trendem je korelace zvýšené abundance lišejníků s fotobiontem z rodu *Trentepohlia* se zvyšujícím se stářím stromu (Hedenas et al, 2007).

Houby asociující s fotobionty z čeledi Trentepohliaceae jsou roztroušeny ve 3 třídách vřeckovýtrusných hub (Ascomycota) - Arthoniomycetes, Dothideomycetes a Eurotiomycetes. Spojení hub a čeledi Trentepohliaceae je pravděpodobně adaptací na zastíněné vlhké tropické habitáty. Rozličné rody hub asociují s Trentepohliaceae a tvoří tak lišejníky. Jsou to např. *Anthracotheceum*, *Coenogonium*, *Cystocoelus*, *Cryptothecia*, *Dendrographa*, *Dichosporidium*, *Porina*, *Rhodium*, *Trypethelium*, a další. U některých druhů *Coenogonium*, *Cystocoelus* a *Racodium* dokonce fotobiont z Trentepohliaceae určuje strukturu výsledné stélky (Nelsen et al, 2011).

7.4 Potenciální průmyslové využití

Nitráty, nitrity, amoniak a fosfáty jsou nejčastějšími kontaminanty odpadních vod. Když je jimi kontaminována i pitná voda, mohou mít nežádoucí účinky. Pokud těhotné ženy pijí vodu obsahující nitráty, zvyšuje se riziko vzniku vývojových vad plodu (Brender et al, 2013). Některé studie ukazují, že lidé dlouhodobě vystaveni vodě kontaminované nitráty jsou více náchylní k onemocnění jistým typem rakoviny. Řasy však tyto sloučeniny využívají jako složky své výživy, důležité pro růst (Al-Balushi & Talebi 2012).

Nedávné výzkumy se zaměřily na případnou možnost průmyslově využít metabolické procesy řas, a to i druhů rodu *Trentepohlia*, k eliminaci kontaminantů v pitné vodě. Katsuya et al (2007) sestavil fotobioreaktor v laboratorní velikosti na čištění vody pomocí biofiltru obsahujícího řasu *Trentepohlia aurea*.

Ta by mohla (za stálého osvětlení) čistit odpadní vody od nitrátů (NO_3^-) a fosfátů (HPO_4^{2-} , H_2PO_4^-), kterými se živí. Za nižší intenzity osvětlení biofiltru byla efektivita odstranění anorganických složek vyšší. Řasa byla schopna odstranit téměř všechny ortofosfát za 26 dní při cyklování vody v reaktoru. Procento nitrátu odstraněného z odpadní vody je 37% za 30 dní (Al-Balushi & Talebi, 2012). Přitom naroste biomasa *Trentepohlia aurea*, která vykazuje vyšší růst v médiích bohatých na NaNO_3 .

7.5 Specifická vůně

U některých druhů, zejména pak u *T. odorata* se ve staré literatuře často objevovala zmínka o její typické vůni, podobné vůni fialek (Bornet, 1873; de Toni, 1889; Brand, 1902). U *T. iolithus* byla zřejmě vůně tak nápadná (Hariot, 1889), že jí vysloužila přezdívku „Veilchenmoos“ (v překladu fialkový mech) či „Veilchenstein“ (fialkový kámen). Fischer (1922) se dokonce domníval, že všechny druhy rodu *Trentepohlia* touto vůní disponují, a že je nějak spojená s karotenoidními barvivy. To však nebylo potvrzeno ani vyvráceno a novodobé studie se již vůni řas nezabývají.

7.6 Přírodní úkazy způsobené masivním namnožením rodu *Trentepohlia*

Při extrémním namnožení mohou řasy způsobit intenzivní zbarvení substrátů natolik nápadné, že přitahuje turisty z celého světa. Příkladem je ledovcové údolí Mt. Gongga v Číně (Liu et al, 2012). V údolí řeky Yajiangeng je od roku 2005 většina kamenů pokryta tmavě

červenými řasovými povlaky (barva je způsobena karotenoidy – obr. 18), které daly vzniknout přezdívce „Red Stone Valley“. Působí je *Trentepohlia iolithus* var. *Yajiagengensis* (Obr. 19). Globální oteplování (záplavy suti způsobené táním ledovců, těžké deště a mlhy) a lidská aktivita (budování silnic) zvýšily množství exponovaných kamenů a utvořily ideální podmínky pro masivní růst rodu *Trentepohlia*.



Obr. 18: Red Stone Valley – masivní namnožení *Trentepohlia iolithus* var. *yajiagengensis* způsobuje intenzivní červené zbarvení kamenů (Liu et al, 2012)



Obr. 19: *Trentepohlia iolithus* var. *Yajiagengensis* (Liu et al, 2012)

8. Koncept druhu

8.1 Původní jména rodu

Trentepohlia byla dříve v literatuře označována různými názvy, jako např. *Byssus* (Linné, 1753), *Lepra* (Wiggers, 1780) *Chroolepus* (Agardh, 1824; Kützing, 1843, 1845; Zeller, 1873; de Toni, 1889; Cesati, 1868), *Conferva* (Agardh, 1824), *Oedogonium* (Tiffany, 1936), *Bulbotrichia* (Kützing, 1849), *Coenogonium* (Müller, 1881), a samozřejmě i *Trentepohlia* (Martius, 1817; Wallroth, 1833; Wille, 1913).

8.2 Polymorfismus

Mikroskopické zelené řasy jsou velmi rozšířené v terestrických habitatech. Po více než dvě stě let byl výzkum jejich diverzity a rozšíření založen výhradně na morfologických datech. V posledních 30 - ti letech však máme díky novým metodám (nejprve elektronová mikroskopie, poté zejména molekulární systematika a sekvenování DNA) k dispozici důležitá molekulární a ultrastrukturální data, která jsou v kontrastu s daty morfologickými (ty se pro svou variabilitu ke stanovení příbuzenských vztahů příliš nehodí, protože oproti aspektům molekulárním se morfologie může odvíjet od změn prostředí).

Vypadá to, že ač byla čeleď Trentepohliaceae intenzivně studována již dvě stě let, největší pokrok se odehrál v posledních desetiletích právě díky rozvoji techniky a nových metod.

Pozoruhodné jsou aspekty morfologie (Rindi et al, 2009b) - ačkoliv jsou tyto zelené řasy geneticky velmi různorodé, jejich vzhled je často omezený a navzájem podobný, zřejmě kvůli nutnosti přizpůsobit se stejným či podobným podmínkám života mimo vodní prostředí (Rindi et al, 2009a) – a právě tato nutnost způsobila, že i separátní taxony mají téměř identickou morfologii. Nejspíš se jedná o životní strategii, neboť vývoj v terestrických podmínkách patrně přináší určité evoluční zábrany („evolutionary constraints“), které favorizují pouze úzký okruh morfologických forem organismů.

8.3 Určovací znaky dříve a dnes

Morfologie řady druhů rodu *Trentepohlia* je velice variabilní a některé druhy byly dlouho považovány za polymorfické (Brand, 1902; Printz, 1964; Rindi & Guiry, 2002; Rindi et al,

2005; Rindi et al, 2006), což vedlo k potížím s určováním druhů a taxonomií. Hlavními určovacími znaky byla zejména tato kritéria: tvar a velikost (délka, šířka) vegetativních buněk, přítomnost vláskovitých buněk, větvení vláken, pozice a morfologie rozmnožovacích struktur (Hariot, 1889; Karsten, 1891; Schmidle, 1897; Printz, 1939, 1964). Tyto znaky se však zřejmě mohou lišit v různých ekologických podmínkách. Bude proto nutné důkladné přeorganizování hranic rodů a druhů, a to zejména u rodu *Trentepohlia*.

Fylogeneticky signifikantními určovacími znaky se jeví být: subkutikulární habitus stélky, heteromorfický životní cyklus a přítomnost zoosporangií pro rod *Cephaleuros*. Přítomnost zoosporangií ve skupinách na vršku laterální větve je zase typická pro některé druhy *Trentepohlia*, zejména pro *T. arborum*, ale i pro *Cephaleuros* a *Stomatochroon* (Lopéz-Bautista et al, 2006; Rindi & Lopéz-Bautista, 2007), zatímco dříve sledované tradiční znaky jako tvar a velikost buněk, prostrátní/vzpřímená vlákna a typ kolonizovaného substrátu zřejmě nejsou fylogeneticky relevantní.

Dřívější pozorování byla založena hlavně na monografiích Henrika Printze (1939, 1964). První obecné shrnutí taxonomie čeledi Trentepohliaceae založené na molekulárních datech (sekvence 18S rDNA) přinesl až Lopéz-Bautista et al (2006). To znamená, že odhalování pravých vztahů mezi druhy v rámci rodu *Trentepohlia*, ale i vztahů mezi jednotlivými rody čeledi Trentepohliaceae je teprve na počátku.

8.4 Nové poznatky pro definici rodů čeledi Trentepohliaceae

Jak tedy vypadají vztahy mezi rody v rámci čeledi Trentepohliaceae? Některé rody již byly dobře podpořeny molekulárními daty, u jiných však bude nutná důkladná revize.

Rod *Cephaleuros* tvoří dobře definovaný monofyletický klad, *Trentepohlia* je polyfyletická a ostatní druhy nereprezentují separované linie.

Physolinum bylo vytyčeno Printzem (1920) jako monospecifický rod pro *T. monile*, kterou popsal poprvé De Wildeman (1891), a to na základě vegetativních i reprodukčních znaků. Vegetativní znaky (dělení pomocí buněčné stěny, chybějící rozdělení hlavní osy a vedlejších větví, zúžení mezi sousedními buňkami) se však v určitých variacích vyskytují i u rodu *Trentepohlia*, a proto není důvod separovat *Physolinum* od *Trentepohlia*. Přítomnost aplanospor (nepohyblivých spor) jako rozmnožovacích struktur řada autorů zpochybňuje. V recentní literatuře, až na některé výjimky, není *Physolinum* uváděno jako samostatný rod v čeledi Trentepohliaceae. Davis & Rands (1993) však popisují nález lichenizovaného *Physolinum* v 5 let starých kulturách z jeskyně Onyx Cave a dokonce uvádějí přítomnost

aplanospor o průměru 3-5 μm , které bylo možno silným tlakem vymáčknout ze sporangií. Ačkoliv je v článku přítomno nemálo fotografií lichenizované stélky *Physolinum*, fotografie aplanospor bohužel úplně chybí.

Určité znaky vedly k vymezení nového rodu *Printzina* (Thompson & Wujek, 1992) a přesun několika druhů z rodu *Trentepohlia* právě do tohoto nového rodu (Thompson & Wujek, 1992). Název *Printzina* byl odvozen od jména Henrika Printze, německého vědce, který se jako první pokusil sepsat monografii rodu *Trentepohlia*. Hlavní důvody pro zavedení rodu *Printzina* zahrnovaly:

- Přítomnost globulárních až ledvinovitých sporangií (u *Trentepohlia* jsou sporangia vejčitá)
- Dobře rozvinutá prostrátní vlákna, ojedinělý výskyt vztyčených vláken (u *Trentepohlia* mnoho vztyčených vláken)
- Laterální sporangia ojediněle, sesilně na prostrátních vláknech či terminálně na vztyčených vláknech (u *Trentepohlia* laterální sporangia ojediněle či ve skupinách, terminálně, u větveného sporangioforu na prodloužené hlavní terminální buňce)
- Gametangia terminální či laterální (u *Trentepohlia* pouze terminální)
- Růst v zastíněných, vlhkých habitatech, zejména epifyticky na listech, zelená barva u *Printzina* (u *Trentepohlia* osídlení více exponovaných habitatů, většinou žlutá až oranžová barva)

9 druhů bylo následně přesunuto do nového rodu *Printzina*:

P. lagenifera (+ var. *africana*, var. *rugulosa*), *P. bossei*, *P. diffusa*, *P. dusenii*, *P. effusa*, *P. langerheimii*, *P. luteo-fusca*, *P. santurcensis*, *P. ampla* (popsána jako nový druh, Thompson & Wujek, 1992).

Analýzy těchto znaků však vykazují velký překryv u obou rodů, zvláště co se týče prostrátních/vztyčených vláken, a rozlišení druhů na jejich základě je pochybné (Rindi & Lopéz-Bautista, 2007). Existuje i řada přechodných forem, a nebude tedy možné vytyčit jasnou hranici mezi těmito dvěma rody, což bylo potvrzeno i pomocí molekulárních dat.

Nové analýzy *rbcL* a 18S rRNA (Rindi et al, 2009b) nepodpořily monofylii *Trentepohlia* a *Printzina*. Kromě toho pro ustavení rodu *Printzina* byl vybrán druh *P. lagenifera*, u kterého zrovna přímé rozlišení prostrátních a vztyčených vláken neexistuje. Ani typ kolonizovaného habitatu (zastíněný/exponovaný) není fylogeneticky relevantní. Vypadá to, že jediný znak,

který od sebe vskutku rody *Trentepohlia* a *Printzina* definuje, je tvar sporangií (Lopéz-Bautista et al, 2006).

8.5 Tradice vs. nové metody - aneb, co dál?

Molekulární data přináší zcela nový pohled na evoluci a systematiku zelených aerofytických řas. Ten se přitom často neslučuje s pohledem tradičním, založeným již po více než 200 let na morfologických aspektech.

U mnoha skupin bude nutné znovu založit či reorganizovat jejich koncepci, pak teprve budeme moci odhalit dopodrobna jejich rozšíření a ekologii. Již se nelze spoléhat pouze na morfologická data, neboť jsou často v přímém rozporu s daty molekulárními. (Rindi et al, 2009a; Rindi et al, 2009b). Je nutné definovat druhy pokud možno z co nejvíce hledisek: na základě dat molekulárních, morfologických, biochemických, ultrastrukturálních, ekologických i fyziologických. Klíčovou roli budou hrát data molekulární.

Bude vhodné vytvořit fylogenetické stromy mnoha skupin, aby se objasnily vztahy v rámci taxonů. Ideálním molekulárním markerem se doposud zdá být sekvence 18S rDNA. Protože je morfologie řady taxonů homoplázní (vykazuje podobné funkční struktury, které se mohly vyvinout nezávisle na sobě, neboť společný předek jimi nedisponoval), 18S rDNA nám pomůže odhalit fylogenetickou pozici řas, jejichž identifikace na základě morfologie je obtížná či nemožná. Bylo by také dobré tuto sekvenci kombinovat se sekvencí *rbcL* (Rindi et al, 2009b).

Důležité bude prozkoumat i doposud málo studované oblasti, velká diverzita a objevení nových druhů je zvláště pravděpodobné v tropických oblastech. Vhodné bude též zaměřit se na způsoby rozmnožování řas a vzdálenost, na jakou se odehrává.

9. Závěr

Rod *Trentepohlia* zahrnuje zelené řasy z linie Chlorophyta, které jsou však v řadě aspektů neobvyklé. Jedná se o přítomnost plasmodesmat v příčných příhrádkách buněk či tvorbu karotenoidů v buňkách. Dále se tento rod od ostatních zelených řas liší zejména fragmoplastem řízenou cytokinezí, která je charakteristická pro linii Streptophyta, zahrnující některé třídy řas a vyšší rostliny. Zajímavým úkazem je i to, že buňky obsahují MLS - mikrotubulární struktury, které se opět vyskytují hlavně v rámci linie Streptophyta. Možným vysvětlením tohoto jevu se zdá být buď paralelní evoluce, nebo laterální genový přenos.

Je jasné, že koncept druhu založený pouze na morfologických datech je pro čeleď Trentepohliaceae neadekvátní. Molekulární data budou hrát v budoucích studiích hlavní roli. Řada druhů, jako např. *T. umbrina*, *T. arborum* a *P. lagenifera* se ukázaly být polyfyletickými komplexy kryptických druhů (Rindi et al, 2009b).

Reorganizace již na úrovni rodů bude pravděpodobně nutností. Nyní je taxonomie na úrovni rodů v čeledi Trentepohliaceae založená hlavně na morfologii. Taková klasifikace však bude vyžadovat značnou modifikaci (Rindi et al, 2009b). Tradiční taxonomická kritéria doposud užívaná k odlišení druhů budou muset být také přeorganizována a popis jednotlivých rodů by měl být zúžen.

Na závěr bych ráda nastínila možné směřování mého dalšího výzkumu a diplomové práce. Ačkoliv se samotná morfologická data zdají být nevhodná pro zkoumání rodu *Trentepohlia*, řada nových studií je zatížena opačnou chybou. Tyto studie jsou totiž zaměřeny výhradně na data molekulární. Ta často poukážou na rozpor s daty morfologickými, ale autoři neprovedou žádné taxonomické změny, pouze neshody konstatují a zdůrazní nutnost dalších studií s více vzorky.

Chtěla bych se tedy v rámci své diplomové práce zaměřit na obojí, tj. studovat jak morfologická, tak molekulární data. Základem by byl sběr a případná kultivace přírodních vzorků, jejich morfologická charakterizace a sekvenování. Svou pozornost bych však soustředila i na pozorování a měření rozmnožovacích struktur, které jsou často dostupné pouze ve vzorcích stélek řas odebraných z přírody. Pomocí kombinace molekulárních dat a detailního studia morfologie druhů rodu *Trentepohlia* bych se pokusila definovat jednotlivé druhy a přiřadit k nim odpovídající fylogenetické linie.

10. Literatura

Agardh, C. A. (1824) Literis berlingianis. *Systema algarum* 1-37: 1-312.

Allali, H. A., Rindi, F., Lopéz-Bautista, J. M. (2013) Biodiversity of Trentepohliales (Ulvophyceae, Chlorophyta) in Gabon, Central Africa. *Nova Hedwigia* 96, 3-4: 309-324

Al-Balushi, L., Rout, N., Talebi, S., Al Darmaki, A., Al-Quasmi, M. (2012) Removal of nitrate from wastewater using *Trentepohlia aurea* microalgae. *Proceedings of the World congress on engineering* 1: WCE 2012, July 4-6.

Aptroot, A., Herk, van C. M. (2007) Further evidence of the effects of global warming on lichens, particularly those with *Trentepohlia* phycobionts. *Environmental Pollution* 146: 293-298.

- Boedeker, Ch., Karsten, U., Leliaert, F., Zuccarello, G. C. (2013)** Molecular, biochemical and morphological data suggest an affiliation of *Spongiochrysis hawaiiensis* with the *Trentepohliales* (Ulvophyceae, Chlorophyta). *Phycological research* 61: 133-144.
- Bornet, E. (1873)** Recherches sur le gonidies des Lichens (Algues colorées par la chlorophylle). *Annales des sciences naturelles botanique* 17: 45-100.
- Brand, F. (1902)** Zur näheren Kenntniss der Algengattung *Trentepohlia* Martius. *Beihefte zum Botanischen Centralblatt* 12, 2: 200-225, pl. 6.
- Brender, J. D., Weyer, P. J., Romitti, P. A., Mohanty, B. P., Shinde, M. U., Vuong, A. M., Sharkey, J. R., Dwivedi, D., Horel, S. A., Kantamneni, J., Huber, J. C., Zheng, Q., Werler, M. M., Kelley, K. E., Griesenbeck, J. S., Zhan, F. B., Langlois, P. H., Suarez, L., Canfield, M. A., and the National Birth Defects Prevention Study.** Prenatal nitrate intake from drinking water and selected birth defects in offspring of participants in the national birth defects prevention study. *Environmental Health Perspectives* 121, 9: 1083-1089.
- Cesati, V. de (1868)** Aquae dulcis et submarinae. *Flora europaea algarum* 3: 373.
- Cocquyt, E., Vebruggen, H., Leliaert, F., Clerck, O. de (2010)** Evolution and cytological diversification of the green seaweeds (Ulvophyceae). *Molecular biology and evolution* 27, 9: 2052-2061.
- Cribb, A. B. (1958)** The genus *Trentepohlia* in South-eastern Queensland. *Papers from the Department of botany University of Queensland* 3, 20: 193-201.
- Cribb, A. B. (1963)** Further records of *Trentepohlia* from South-Eastern Queensland. *Papers from the Department of botany University of Queensland* 4, 7: 75-81.
- Cribb, A. B. (1964)** Notes on *Trentepohlia* from Queensland including one growing on a spider. *Papers from the Department of botany University of Queensland* 4, 9: 99-108.
- Czeczuga, B., Maximov, O. M. (1996)** Carotenoids in the cell of the alga *Trentepohlia Gobbii* Meyer. *Acta societatis botanicorum poloniae* 65, 3-4: 273-276.
- Davis, J. S., Rands, D. G. (1993)** Observations on lichenized and free-living *Physolinum* (Chlorophyta, Trentepohliaceae). *Journal of phycology* 29: 819-825.
- Fischer, R. (1922)** Die *Trentepohlia*-Arten Mährens und West-Schlesiens. *Österreichische botanische Zeitschrift* 71: 1-30.
- Gaylarde, P., Englert, G., Ortega-Morales, O., Gaylarde, Ch. (2006)** Lichen-like colonies of pure *Trentepohlia* on limestone monuments. *International biodeterioration & biodegradation* 58: 119-123.
- Graham, L. E., McBride, G. E. (1975)** The ultrastructure of multilayered structures associated with flagellar bases in motile cells of *Trentepohlia aurea*. *Journal of phycology* 11: 86-96.

- Hansgirg, A. (1886)** Prodrömus der Algenflora von Böhmen. *Archiv für die naturwissenschaftliche Landesdurchforschung von Böhmen* 5, 6: 1-96.
- Hariot, P. (1889)** Notes sur le genre *Trentepohlia* Martius. *Journal de Botanique* 3: 345-350, 366-375, 378-388, 393-405, pl. 7.
- Hariot, P. (1890)** Notes sur le genre *Trentepohlia* Martius. *Journal de Botanique* 4: 50-53, 85-92, 178-180, 192-197.
- Harmaja, H. (2011)** *Printzina lagenifera* coll. (Trentepohliales, chlorophyta) epiphyllous in a boreal forest. *Annales botanici fennici* 48: 129-132.
- Hawksworth, D. L., Santesson, R., Tibell, L. (2011)** *Raceolus*, a new genus of sterile filamentous lichen-forming fungi from the tropics, with observation of the nomenclature and typification of *Cystocoleus* and *Rhodium*. *Ima Fungus* 2, 1:71-79
- Hedenas, H., Blomberg, P., Ericson, L. (2007)** Significance of old aspen (*Populus tremula*) trees for the occurrence of lichen photobionts. *Biological conservation* 135: 380-387.
- Chakraborty, T., Mondal, A. K., Mondal, S. (2012)** Orange rapper at Mangrove: *Trentepohlia flava* (W. J. Hooker and Arnott) Cribb, a new discovery from Bhitarkanika Conservatory, India. *International journal of current research* 4, 12: 006-011.
- Chapman, R. L., Borkhsenius, O., Brown, R. C., Henk, M. C., Waters, D. A. (2001)** Phragmoplast-mediated cytokinesis in *Trentepohlia*: results of TEM and immunofluorescence cytochemistry. *International journal of systematic and evolutionary microbiology* 51: 759-766.
- Chapman, R. L., Good, B. H. (2007)** Ultrastructure of plasmodesmata and cross walls in *Cephaleuros*, *Phycopeltis*, and *Trentepohlia* (Chroolepidaceae; Chlorophyta). *British phycological journal* 13: 241-246.
- Karsten, G. H. H. (1891)** Untersuchungen über die Familie der Chroolepideen. *Annales du jardin botanique de Buitenzorg* 10: 1-66, pls 1-6.
- Katsuya, A., Takahashi, E., Hirano, M. (2007)** Development of laboratory-scale photobioreactor for water purification by use of a biofilter composed of the aerial microalga *Trentepohlia aurea* (Chlorophyta). *Journal of applied phycology* 20: 283-288.
- Kjosén, H., Arpin, N., Liaaen-Jensen, S. (1972)** The carotenoids of *Trentepohlia iolithus*. Isolation of β , β -Carotene-2-ol, β , ϵ -Carotene-2-ol and β , β -Carotene-2,2'-diol. *Acta chemica scandinavica* 26: 3053-3067.
- Kützing, F. T. (1843)** *Phycologia generalis*, oder Anatomie, Physiologie und Systemkunde der Tange. Mit 80 farbig gedruckten Tafeln, gezeichnet und gravirt vom Verfasser, pp. [part 1]: [1]-32, [1]-142, [part 2:] 143-458, 1, pls 1-80.

- Kützing, F. T. (1845)** *Phycologia germanica* - d.i. Deutschlands Algen in bündigen Beschreibungen. Nebst einer Anleitung zum Untersuchen und Bestimmen dieser Gewächse für Anfänger: 1-10, 1-340.
- Kützing, F. T. (1849)** *Species Algarum*: [1]-6, [1]-922.
- Lee, C. T., Wee, Y. C., Ho, K. K. (1990)** Growth and development of *Trentepohlia odorata* in culture. *Southeast Asian Fisheries Development Center, Aquaculture Department Institutional Repository (SAIR): conference paper*.
- Leliaert, F., Smith, D. R., Moreau, H., Herron, M. D., Verbruggen, H., Delwiche, Ch. F., De Clerck, O. (2012)** Phylogeny and molecular evolution of the green algae. *Critical Reviews in Plant Science*, 31:1-46.
- Lemes-da-Silva, N. M., Branco, L. H. Z., Necchi-Júnior, O. (2010)** Corticulous green algae from tropical forest remnants in the northwest region of Sao Paulo state, Brazil. *Revista brasileira de botanica* 33, 2: 215-226.
- Linnaeus, C. von (1753)** *Cryptogamia algae*. *Species Plantarum* 2: 1168.
- Liu, G., Zhang, Q., Zhu, H., Hu, Z. (2012)** Massive *Trentepohlia*-bloom in a glacier valley of Mt. Gongga, China, and a new variety of *Trentepohlia* (Chlorophyta). *Public library of science one (PLoS ONE)* 7, 7: e37725.
- Lopéz-Bautista, J. M., Waters, D. A., Chapman, R. L. (2002)** The Trentepohliales revisited. *Constancea* 83.1: Trentepohliales revisited.
- Lopéz-Bautista, J. M., Chapman, R. L. (2003a)** Phylogenetic affinities of the Trentepohliales inferred from small subunit rDNA. *International journal of systematic and evolutionary microbiology* 53: 2099-2106.
- Lopéz-Bautista, J. M., Waters, D. A., Chapman, R. L. (2003b)** Phragmoplastin, green algae and the evolution of cytokinesis. *International journal of systematic and evolutionary mikrobiology* 53: 1715-1718.
- Lopéz-Bautista, J. M., Rindi, F., Guiry, M. D. (2006)** Molecular systematics of the subaerial green algal order Trentepohliales: an assessment based on morphological and molecular data. *International journal of systematic and evolutionary microbiology* 56: 1709-1715.
- Macedo, M. F., Miller, A. Z., Dionísio, A., Saiz-Jimenez, C. (2009)** Biodiversity of cyanobacteria and green algae on monuments in the mediterranean basin: an overview. *Microbiology* 155: 3476-3490.
- Marini, L., Nascimbene, J., Nimis, P. L. (2011)** Large-scale patterns of epiphytic lichen species richness: Photobiont-dependent response to climate and forest structure. *Science of total environment (STOTEN)* 409: 4381-4386
- Martius, C. F. P von (1817)** *Flora cryptogamica erlangensis*: 351.

- Mukherjee, R., Borah, S. P., Goswami, B. C. (2009)** Biochemical characterization of carotenoids in two species of *Trentepohlia* (Trentepohliales, Chlorophyta). *Journal of applied phycology* 22: 569-571.
- Müller, J. (1881)** Lichenologische Beiträge 12. *Flora* 64: 100-112.
- Müller, J. (1882)** Lichenologische Beiträge. *Flora*, Jena 65: 485.
- Nelsen, M. P., Plata, E. R., Andrew, C. J., Lücking, R., Lumbsch, H. T. (2011)** Phylogenetic diversity of trentepohlialean algae associated Roth lichen-forming fungi. *Journal of phycology* 47: 282-290.
- Neustupa, J. (2001)** Aerophytic algae from the tropical rainforests of Peninsular Malaysia. *Czech Phycology* 1: 31-35.
- Neustupa, J., Škaloud, P. (2008)** Diversity of subaerial algae and cyanobacteria on tree bark in tropical mountain habitats. *Biologia* 63, 6: 806-812.
- Nylander, W. (1862)** Conspectus genesis *Coenogonium*. *Annales des science naturelles, botanique et biologie vegetale* 4, 16: 90.
- Ortega-Morales, B. O., Gaylarde, C., Anaya-Hernandez, A., Chan-Bacab, M. J., De la Rosa-García, S. C., Arano-Recio, D., Montero-M, J. (2012)** Orientation affects *Trentepohlia*-dominated biofilms on Mayan monument of the Rio Bec style. *International biodeterioration & biodegradation* 84: 351-356.
- Printz, H. (1920)** Subaerial algae from South Africa. *Det kongelige Norske videnskabers selskab*: 1-41, pls 1-14.
- Printz, H. (1964)** Die Chaetophorales der Binnengewässer (eine systematische Übersicht). *Hydrobiologia* 24: 1-376
- Rindi, F., Guiry, M. D. (2002)** Diversity, life history and ecology of *Trentepohlia* and *Printzina* (Trentepohliales, Chlorophyta) in urban habitats in western Island. *Journal of phycology* 38: 39-54.
- Rindi, F., Sherwood, A. R., Guiry, M. D. (2005)** Taxonomy and distribution of *Trentepohlia* and *Printzina* (Trentepohliales, Chlorophyta) in the Hawaiian Islands. *Phycologia* 44, 3: 270-284.
- Rindi, F., Guiry, M. D., López-Bautista, J. M. (2006)** New records of Trentepohliales (Ulvophyceae, Chlorophyta) from Africa. *Nova Hedwigia* 83, 3-4: 431-449.
- Rindi, F., López-Bautista, J. M. (2007)** New and interesting records of *Trentepohlia* (Trentepohliales, Chlorophyta) from French Guiana, including the description of two new species. *Phycologia* 46, 6: 698-708.
- Rindi, F., Lam, D. W., López-Bautista, J. M. (2008)** Trentepohliales (Ulvophyceae) from Panama. *Nova Hedwigia* 87, 3-4: 421-444.

- Rindi, F., Allali, H. A, Lam, D. W., López-Bautista, J. M. (2009a)** An overview of the biodiversity and biogeography of terrestrial green algae. *Biodiversity Hotspots*, Chapter 3, Editors: Viktore Rescigno et al, Nova Science Publishers, Inc. ISBN: 978-1-6087-458-7.
- Rindi, F., Lam, D. W., López-Bautista, J. M. (2009b)** Phylogenetic relationships and species circumscription in *Trentepohlia* and *Printzina* (Trentepohliales, Chlorophyta). *Molecular phylogenetics and evolution* 52: 329-339.
- Salleh, A., Millow, P. (1999)** Notes on *Trentepohlia dialepta* (Nylander) Hariot (Trentepohliaceae, Chlorophyta) and sporangia of some other species of *Trentepohlia* Mart. from Malaysia. *Micronesica* 31, 2: 373-378.
- Schmidle, W. (1897)** Epiphyllae Algen nebst einer *Pithophora* und *Dasya* aus Neu-Guinea. *Flora oder allgemeine botanische Zeitung* 83: 304-326.
- Suutari, M., Majaneva, M., Fler, D. P., Voirin, B., Aiello, A., Friedl, T., Chiarello, A. G., Blomster, J. (2010)** Molecular evidence for a diverse green algal community growing in the hair of sloths and specific associations with *Trichophilus welckeri* (Chlorophyta, Ulvophyceae). *BMC Evolutionary biology* 10: 86, doi:10.1186/1471-2148-10-86.
- Thompson, R. H., Wujek, D. E. (1992)** *Printzina* gen. nov. (Trentepohliaceae), including a description of a new species. *Journal of phycology* 28: 232-237.
- Tiffany, L. H. (1936)** Wille's collection of Puerto Rican fresh-water algae. *Brittonia* 2: 165-176, 3 plates.
- Toni, G. B. de (1889)**. Sylloge algarum omnium hucusque cognitarum. *Boston society of natural history*: 10-350.
- Tozer, W. C., Hackell D., Miers, D. B., Silvester, W. B. (2005)** Extreme isotopic depletion of nitrogen in New Zealand lithophytes and epiphytes; the result of diffusive uptake of atmospheric ammonia? *Oecologia* 144: 628-635.
- Wallroth, F. W. (1833)** Algas et fungos. *Flora cryptogamica germaniae* 2: 151
- Wiggers, F. H. (1780)** *Primitiae florae holsaticae*: 96.
- Wildeman, É. de (1888)** Note sur le genre *Trentepohlia*. *Bulletin de la société royale de botanique de Belgique*: 178-182.
- Wildeman, É. de (1891)** Les *Trentepohlia* des Indes Néerlandaises. *Annales du Jardin Botanique de Buitenzorg* 9: 127-142.
- Wille, N. (1913)** Neue Süßwasseralgen von den Samoa-Inseln. *Hedwigia* 3: 144-147.
- Zeller, G. (1873)** On Burmese algae. *Journal of the Asiatic society of Bengal* 42, 2: 175-193.